

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS

POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS



CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

**“COMPOSICIÓN DE LA FLORA MICOLÓGICA EN ALIMENTOS
PECUARIOS Y EFECTO DE FACTORES AMBIENTALES
SOBRE EL CRECIMIENTO EN MAÍZ DE CEPAS NATIVAS
DE FUSARIUM SPP“**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS PECUARIAS

P R E S E N T A :

M.C. MARGARITA HERNÁNDEZ GALLARDO

Director. Dr. Agustín Ramírez Álvarez

Asesor: Dr. Mario Noa Pérez

Asesor: Dr. Arturo Escobar Medina

GUADALAJARA, JAL., FEBRERO DE 2001



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

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

H. CUERPO COLEGIADO
DEL POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS DE LA UNIVERSIDAD DE
GUADALAJARA
PRESENTE.

Por éste conducto nos permitimos enviar la **VERSION FINAL DE LA TESIS** que desarrolló el pasante del Programa de Doctorado en Ciencias Pecuarias (PICP) de la Universidad de Guadalajara, M. en C. MARGARITA HERNÁNDEZ GALLARDO, cuyo título es:

“COMPOSICIÓN DE LA FLORA MICOLOGICA EN ALIMENTOS PECUARIOS Y EFECTOS DE FACTORES AMBIENTALES SOBRE EL CRECIMIENTO EN MAIZ DE CEPAS NATIVAS DE *Fusarium spp.*”

Trabajo dirigido por: Dr. AGUSTIN RAMIREZ ALVAREZ

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 21 de Febrero de 2001

REVISOR

Dr. JACINTO BAÑUELOS PINEDA

REVISOR

Dra. DELIA G. GONZALEZ AGUILAR

REVISOR

Dr. ALBERTO TAYLOR PRECIADO

REVISOR

Dr. EFRAIN PEREZ TORRES

REVISOR

Dr. HUGO CASTAÑEDA VAZQUEZ

CUCBA



BIBLIOTECA CENT

AGRADECIMIENTOS

MUY ESPECIALMENTE AL PROGRAMA NACIONAL DE SUPERACIÓN DEL PERSONAL ACADÉMICO (SUPERA), QUE CON SU APOYO ECONÓMICO, LOGRE LA CULMINACIÓN DE ESTE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.

AL DR. AGUSTÍN RAMÍREZ ÁLVAREZ, DIRECTOR DE TESIS. CON EL RECONOCIMIENTO DE SU GRAN CAPACIDAD PROFESIONAL Y ESPECIAL AGRADECIMIENTO AL APOYO QUE ME BRINDO

AL DR. JACINTO BAÑUELOS PINEDA. POR SU GRAN APOYO Y CALIDAD HUMANA, CON INFINITA ADMIRACIÓN.

AL DR. EFRAIN PEREZ TORRES POR COMPARTIR SUS CONOCIMIENTOS Y POR TODO EL APOYO OTORGADO, SINCERAMENTE MUCHAS GRACIAS.

A MI HONORABLE JURADO

QUIEN AL REVISAR EL PRESENTE TRABAJO Y APORTANDO SU VALIOSA EXPERIENCIA, AYUDARON A SU PRESENTACIÓN SATISFACTORIA. MI ADMIRACIÓN Y RESPETO.



“A TODOS LOS QUE AMO”



CONTENIDO

	Pag
RESUMEN	X
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Reseña histórica de las micotoxinas	2
1.2 Factores que determinan el desarrollo de hongos productores de Micotoxinas	4
1.2.1 Humedad	5
1.2.2 Temperatura	8
1.2.3 Substratos	10
1.2.4 Nutrientes	10
1.2.5 Intensidad de la luz	11
1.2.6 pH	11
1.2.7 Manejo	12
1.3 Hongos típicos productores de micotoxinas	12
1.4 Propiedades físico - químicas de algunas micotoxinas	18
1.5 Principales micotoxinas producidas por <i>Aspergillus</i>	24
1.6 Principales micotoxinas producidas por <i>Fusarium</i>	27
1.7 Objetivos	33
1.7.1 Objetivo general	33
1.7.2 Objetivos particulares	33
1.8 Hipótesis	34
2 MATERIAL Y METODO	35
2.1 Determinación de la carga fúngica en granos y alimentos balanceados ..	35
2.2 Identificación de especies fúngicas	35
2.3 Identificación microscópica	36
2.4 Determinación del grado de contaminación con aflatoxinas	36
2.5 Determinación de los factores ambientales	37
2.6 Determinación del grado de contaminación con toxina T-2, Nivalenol, Deoxinivalenol y Diacetoxiscirpenol	38

2.7 Diseño experimental usado y análisis estadístico	38
3 RESULTADOS	41
3.1 Recuentos de unidades formadoras de colonias en sorgo, maíz, alimentos para aves y cerdos	41
3.2 Identificación de especies fúngicas en sorgo y maíz	42
3.3 Identificación de especies fúngicas en alimentos aves y cerdos	43
3.4 Determinación de Aflatoxinas en sorgo, maíz, alimentos para aves y cerdos	44
3.5 Evaluación de los factores ambientales	45
4 DISCUSIÓN	51
5 CONCLUSIONES	61
6 BIBLIOGRAFÍA	63



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Características morfológicas del género de <i>Aspergillus</i> spp	15
Figura 2 Características morfológicas del género de <i>Penicillium</i> spp	16
Figura 3 Características morfológicas del género de <i>Fusarium</i> spp	18
Figura 4 Estructuras químicas de las principales aflatoxinas	20
Figura 5 Estructura química de algunos tricotecenos	21
Figura 6 Metodología para evaluar condiciones ambientales para el crecimientos de cepas de <i>Fusarium</i> spp	40
Grafica N° 1 Recuentos de unidades formadoras de colonias en sorgo, maíz, alimentos para aves y cerdos	41
Grafica N° 2 Frecuencia relativa de los diferentes géneros de hongos encontrados en sorgo y maíz	42
Grafica N° 3 Frecuencia relativa de los diferentes géneros de hongos encontrados en alimentos para aves y cerdos	44
Grafica N° 4 Presencia de aflatoxinas B ₁ , B ₂ , G ₁ y G ₂ en sorgo, maíz, alimentos para aves y cerdos	45
Grafica N° 5 Producción de toxina T-2 bajo temperaturas de -5, 15 y 23 °C, con humedades de 8, 16 y 20% en maíz de tres calidades	48
Grafico N° 6 Producción de Nivalenol bajo temperaturas de -5, 15 y 23 °C, con humedades de 8, 16 y 20% en maíz de tres calidades	49
Grafico N° 7 Producción de Deoxinivalenol bajo temperaturas de -5, 15 y 23 °C, con humedades de 8, 16 y 20% en maíz de tres calidades ...	49
Grafico N° 8 Producción de Diacetoxiscirpenol bajo temperaturas de -5, 15 y 23 °C, con humedades de 8, 16 y 20% en maíz de tres calidades	50

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

ÍNDICES DE CUADROS

Cuadro 1 Cronología de la presencia de las micotoxicosis	3
Cuadro 2 Contenido de Humedad en diferentes granos y semillas en equilibrio con humedades relativas de 65 – 85 % y hongos que comúnmente se les encuentra creciendo bajo esas condiciones de humedad	6
Cuadro 3 Actividad del agua mínima para el crecimiento de los hongos comunes de almacén	7
Cuadro 4 Temperaturas mínima, óptima y máxima para el desarrollo de hongos productores de micotoxinas	9
Cuadro 5 Hongos típicos y micotoxinas asociados con diversos productos Agrícolas	13
Cuadro 6 Diferencias morfológicas del género de <i>Aspergillus</i>	15
Cuadro 7 Principales micotoxinas producidas por <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> y sus efectos tóxicos	26
Cuadro 8 Análisis de Varianza para la evaluación de los diferentes efectos de la determinación de tricotecenos	46
Cuadro 9 Comparación de medias en la interacción del factor temperatura y humedad en tres calidades de maíz A, B y C para la alimentación animal	47
Cuadro 10 Comparación de medias de los factores de temperatura y concentración de tricotecenos en tres calidades de maíz A, B y C para la alimentación animal	47



RESUMEN

Mediante los alimentos proporcionamos los nutrientes indispensables para el desarrollo y la reproducción de los animales domésticos, sin embargo también existe la posibilidad de aportar mediante el alimento, compuestos tóxicos y microorganismos no deseables que pueden afectar la producción animal. Con el objeto de Identificar la flora micologica y aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂, presentes en sorgo, maíz y en alimentos para aves y cerdos, así como determinar el efecto de los factores ambientales sobre el crecimiento de cepas nativas de *Fusarium spp.* El presente trabajo se llevó a cabo en el área de Micotoxicología del Departamento de Salud Pública de la División de Ciencias Veterinarias del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara. Se llevó a cabo un monitoreo, obteniendo 60 muestras de sorgo, maíz, alimento para aves y cerdo para la determinación de hongos por la técnica de vaciado en placa y para la determinación de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂, se utilizó la técnica de cromatografía en capa fina, además de obtener muestras de maíz de tres calidades de la región de Atoyac, Jalisco para determinar los factores ambientales y a su vez la producción de tricotecenos. Los cuales se determinaron mediante cromatografía de afinidad inmunológica. De los resultados obtenidos en la determinación de los recuentos de U.F.C./g. se encontró lo siguiente; Del 100 % de las muestras procesadas se obtuvieron recuentos de unidades formadoras de colonias de la siguiente manera: En sorgo; recuentos altos (10⁶-10⁷ U.F.C./g) 5 %, moderados (10⁴ - 10⁵ U.F.C./g) 41.66 % y Bajos (10² - 10³ U.F.C./g) 53.33 %. En maíz; recuentos altos 30 %, moderados 8 % y bajos 62 %. En alimento balanceado para aves; recuentos altos 24 %, moderados 61 % y bajos 15 %. En alimento balanceado para cerdos; recuentos altos 11.29 % moderados 64.51 % y bajos 24.19 %. Se aislaron 285 cepas en sorgo, en maíz 293, en alimento para aves 220 y en alimento para cerdos 359, correspondientes a los siguientes géneros: *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Fusarium spp.*, *Diplodia spp.*, *Mucor spp.*, *Cladosporium spp.*, *Alternaria spp.*, *Trichoderma spp.*, *Absidia spp.*, *Helminthosporium spp.*, *Rhizopus spp.* y *Phoma spp.* entre otros. Del total de las muestras analizadas 204, fueron positivas detectándose los cuatro tipos de aflatoxinas. La concentración que presentaron variaron de 16 a 270 ppb con la siguiente distribución: En sorgo; B₁ 44.7 %, B₂ 32.8 % y G₂ 22.3 %. En maíz; B₁ 34.1 %, B₂ 21.1 %, G₁ 22.3 % y G₂ 22.3 %. En alimento balanceado para aves; B₁ 46.2 %, B₂ 31.2 %, G₁ 2.5 % y G₂ 20 %. En alimento balanceado para cerdos; B₁ 38.8 %, B₂ 25 %, G₁ 20.8 % y G₂ 15.2 %. En la determinación de los factores ambientales se reflejó que las temperaturas y humedades a las que fue sometido el maíz, presentó un mayor porcentaje en la producción de Toxina T-2, Nivalenol, Deoxinivalenol, Diacetoxiscirpenol. Se concluye que las materias primas, al igual que los alimentos balanceados para aves y cerdos, presentaron porcentajes de contaminación altos. En referencia a las cepas nativas de *fusarium spp.*, han formado una resistencia a los diferentes factores ambientales, y la producción de la Toxina T-2, Nivalenol, Deoxinivalenol y Deoxinivalenol se encontraron en concentraciones que se consideran de riesgo al estar presentes en maíz.

1. INTRODUCCION

En la actualidad uno de los retos prioritarios a nivel Mundial, es la producción de alimentos libres de contaminantes, el hombre utiliza como principales componentes de su alimentación a los granos y sus derivados. Así se tienen que en los países en vías de desarrollo, alrededor del 85% de la alimentación depende de los productos agrícolas. En tanto que, en los países desarrollados, el 40% de la alimentación proviene de los productos agrícolas. En términos generales se considera que la dieta del hombre, a nivel Mundial, está constituida en un 70% por productos de origen animal.

Con relación a esto, hay que tomar en cuenta que los alimentos de origen pecuario son producidos mediante la alimentación de los animales con granos y concentrados proteicos.

Así la gran mayoría de los productos agrícolas son invadidos por diversos microorganismos durante su desarrollo en el campo, la bodega, el silo y las trojes siendo los hongos los más abundantes y la principal causa de enfermedades, ocasionando severas pérdidas económicas al reducir el potencial de producción, transmitiéndolos de un ciclo a otro a través de las semillas (Moreno, 1988).

Algunas veces, el desarrollo de hongos en los alimentos sólo trae como consecuencia un simple cambio en el aspecto organoléptico del producto, cuando esto sucede comúnmente es desechado y utilizado para el consumo animal. Sin embargo, en ocasiones, también, suele alterarse el valor nutritivo. Si se le suministra a los animales piensos fabricados con materias primas de mala calidad sanitaria, ello origina una reducción del rendimiento de los animales y una producción no rentable (Bueno et al., 1989).

1.1 Reseña histórica de las micotoxinas.

Hacia finales de los años cincuenta se observó en los países Anglosajones una hepatitis exudativa de origen desconocido que afectaba a animales domésticos.

En 1960, enfermaron y murieron aproximadamente 100,000 pavos en el sur de Inglaterra reconociéndose entonces la relación entre la enfermedad y el alimento enmohecido, dándole el nombre de la "enfermedad X de los pavos". Esto, llevo a considerar un enfoque multidisciplinar para investigar la causa del problema. Estos esfuerzos tuvieron un resultado, con lo cual se encontró la causa en un factor tóxico existente en la harina de cacahuete del Brasil que se utilizaba como fuente de proteínas en los piensos de la aves afectadas. Al parecer, el factor tóxico era producido por dos hongos *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus flavus*, de aquí que se le diera el nombre de "aflatoxina", aludiendo a su origen y encontrando que se trataba de una serie de compuestos tóxicos químicamente relacionados, los cuales varían en su toxicidad (Lindner, 1985; Montemayor, 1993).

El descubrimiento de las propiedades hepatotóxicas y carcinogénicas, así como la elucidación de la estructura de las toxinas de *Aspergillus flavus* modificó la estrategia de lucha en toda la esfera de las micotoxinas y es a partir de este momento que se inicia un estudio sistemático de las toxinas producidas por hongos (Sanchis et al., 1982; Van Diuk et al., 1984).

Las enfermedades producidas por las micotoxinas en los hombres y los animales se conocen como micotoxicosis; sin embargo, los términos de micotoxinas y micotoxicosis no fueron establecidos

hasta después de la década del 60 del presente siglo, época en la que estos metabolitos comenzaron a tener identidad propia. En el cuadro N° 1, se muestra en orden cronológico, un resumen de las principales enfermedades asociadas a la ingestión de alimentos contaminados con micotoxinas (William and Gary, 1981; Wyatt, 1990).

Cuadro N° 1. Cronología de la presencia de las micotoxicosis.

Época o año	Síntomas Clínicos	Hongos	Toxinas
1850	IDEM (Ergotismo)	<i>C. purpurea</i> <i>C. paspalum</i>	Alcaloides del Ergot
1928	Enfermedad renal en cerdos ochratoxicosis	<i>Aspergillus ochraceus.</i>	Ochratoxina A
1930	Reacción irritativa y necrosis ocular y de la mucosa oral.(Estaquibotriotoxicosis equina)	<i>Stachybotrys alternans.</i>	Satratoxinas F,S,H,I
1940	Necrosis bucal, leucopenia, hemorragica (Aleukia toxica alimentaria)	<i>Fusarium spp</i>	Tricotecenos
1960	Lesiones en hígado enfermedad X de los pavos. (aflatoxicosis)	<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxinas B ₁ , B ₂ , G ₁ , y G ₂ .
	Vomito, diarrea inapetencia hemorragias del pulmón (enfermedad del hongo)	<i>Fusarium spp</i>	Fusarenona X y Nivalenol
	Mareos vómitos, erupciones cutáneas, dificultades respiratorias, shock y muerte (lluvia amarilla)	<i>Fusarium spp.</i>	T2 Toxina Deoxinivalenol Diacetoxiscirpenol
1990	Síndrome de edema pulmonar porcino Leucoencefalomalacia equina	<i>Fusarium moniliforme</i>	Fumonisinias B ₁ ,B ₂

Fuente: Liewen M. B. and Bullerman L. B. 1992

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

1.2 Factores que determinan el desarrollo de hongos productores de micotoxinas.

Los hongos son organismos a los que se les ha reconocido como un grupo independiente de los reinos vegetal y animal, para lo cual se ha constituido el llamado reino Fungi.

Estos organismos son eucariotes, lo cual significa que tienen núcleo bien definido por membranas que contienen un determinado número de cromosomas. Además son heterótrofos, por lo tanto dependen de la obtención de compuestos orgánicos a través de sus actividades saprofiticas o parasiticas (William and Gary, 1981).

Sin embargo, los hongos tienen influencia directa sobre la salud, algunos son altamente benéficos y el hombre los utiliza directamente como en la producción de antibióticos. Otros juegan un papel importante en la naturaleza como degradadores de materia orgánica, por otra parte, los hongos son la principal causa de enfermedades de los cultivos agrícolas, por lo que llegan a afectar la economía (Moreno, 1988).

Los hongos precisan de varios nutrientes para hacer frente a sus necesidades de energía y para formar macromoléculas tales como proteínas y el ADN. Los compuestos nitrogenados orgánicos pueden ser asimilados por todos los hongos, en tanto, los compuestos inorgánicos únicamente pueden ser asimilados por un número limitado de especies. En el substrato se presentan ciertas vitaminas, otras pueden ser sintetizadas según la especie de hongo que se trate. Casi todos los productos alimenticios contienen los nutrientes antes mencionados y por consiguiente sirven de substrato.

La gran mayoría de los hongos necesitan oxígeno, aunque algunos pueden desarrollarse en condiciones anaerobias utilizando un proceso de fermentación en el cual se forma etanol y ácidos orgánicos.

De la amplia dispersión de los hongos en todos los estratos bióticos e interés se desprende su fácil y frecuente aparición como contaminantes en productos alimenticios, ya que éstos están constituidos por sustancias orgánicas e inorgánicas más o menos complejas, constituyendo excelentes medios para la sustentación y reproducción de un gran número de especies fúngicas. Además, como sucede con las bacterias, diversos factores influyen en la proliferación fúngica sobre los alimentos.

Entre los principales factores que regulan el crecimiento de hongos, se encuentran la humedad y la temperatura del substrato, denominadas ambas por el medio ambiente. La humedad del substrato es el principal factor que regula el crecimiento del hongo y la ulterior formación de micotoxinas (Pascual, 1992).

1.2.1 Humedad.

Los productos alimenticios contienen humedad, en la que se presenta en los granos o semillas en dos formas principales: agua de composición y agua absorbida. La cantidad de "agua libre" presente, es un factor decisivo para la velocidad con que se estropea el producto. Se efectúa un intercambio de humedad (agua) con el aire circundante y ese intercambio mantiene el equilibrio que siempre ha de existir entre la humedad del producto y la de la atmósfera (Moreno, 1995).

La humedad se traslada de un lugar a otro por efecto de las diferencias de temperatura o de la presión variable del vapor. Puede transportarse por el aire caliente que se eleva ayudando por las corrientes de convección, arrastrando la humedad hacia zonas de temperatura más bajas y haciendo que se condense sobre la superficie de éstas. El movimiento de la humedad fuera de los granos ocurre debido a las presiones más altas del vapor en el grano que en el aire que le rodea (Hall, 1980).

En el cuadro N° 2, se observa el contenido de humedad de diferentes granos y semillas en equilibrio con humedades relativas de 65 – 90 % y hongos que comúnmente se les encuentra creciendo bajo esas condiciones de humedad. Los porcentajes son aproximados, ya que el contenido de humedad en equilibrio de una determinada clase de semillas varía con diferentes factores como la variedad del grano y localidad y especialmente si los granos están ganando o perdiendo humedad para alcanzar el equilibrio (Christensen and Kaufmann, 1974).

Cuadro N° 2. Contenido de humedad en diferentes granos y semillas en equilibrio con humedades relativas de 65 – 85 % y hongos que comúnmente se les encuentra creciendo bajo esas condiciones de humedad.

Humedad relativa	Avena, Arroz, Cebada, Maíz, Sorgo y Trigo	Soya	Cartamo Cacahuete y Girasol	Hongos.
65 – 70	13.0 – 14.0	12.0 – 13.0	5.0 – 6.0	Aspergillus
70 – 75	14.0 – 15.0	13.0 – 14.0	6.0 – 7.0	Restrictus, <i>A. glaucus</i>
75 – 80	14.5 – 16.0	14.0 – 15.0	7.0 – 8.0	Candidus, <i>A. ochraceus</i>
80 – 85	16.0 – 18.0	15.0 – 17.0	8.0 – 10.0	<i>A. favus</i> , <i>A. penicillium</i>

Fuente: CHRISTENSEN Y SAUER 1982

Los hongos que contaminan los granos son principalmente los que crecen con valores mínimos de la actividad del agua (a_a) y no se incluyen ninguno de los hongos de campo. Por ejemplo, el *Penicillium* tiene una a_a mínima próxima a 0.86, mientras que los

Penicillium de almacén tienen su mínimo cercano a 0.81 – 0.83. El *Aspergillus halophilicus* es halófilo, como indica su nombre, requiriendo el 10 – 15 % de ClNa ó el 55% de sacarosa en los medios de aislamiento (es decir una a_a alrededor de 0.70). El *Aspergillus restrictus* y *A. glaucus* crecen con una a_a de 0.78 – 0.80, a la que los demás hongos de almacén no pueden crecer.

El límite inferior absoluto de a_a que permite el crecimiento de los hongos de almacén en un periodo de 2 años, a una temperatura de 21 – 27 °C, es 0.70 es decir, una humedad relativa en equilibrio entre las semillas del 70 %. En el cuadro N° 3 se puede observar la actividad del agua mínima para el crecimiento de los hongos comunes de almacén a su temperatura óptima de crecimiento (Christensen and Kaufmann, 1974).

Cuadro N° 3. Actividad del agua mínima para el crecimiento de los hongos comunes de almacén.

Hongo	a_a Mínima requerida
<i>Aspergillus halophilicus</i>	0.68 – 0.70
<i>A. restrictus</i>	0.70 – 0.75
<i>A. glaucus</i>	0.70 – 0.75
<i>A. candidus</i>	0.75 – 0.80
<i>A. ochraceus</i>	0.80 – 0.85
<i>A. flavus</i>	0.80 – 0.85
<i>Penicillium</i>	0.85 – 0.90

Fuente: Christensen y Kaufmann 1974.

La actividad hídrica (A_h) ha ocupado el puesto del contenido de humedad como expresión más útil de la disponibilidad de agua para el desarrollo de los microorganismos. La humedad relativa se usa con referencia a la atmósfera (Pascual, 1992). La humedad relativa de equilibrio o la presión de vapor de agua relativa de equilibrio se refiere a la atmósfera de un espacio cerrado, donde la presión de vapor de agua está en equilibrio con la humedad del material almacenado (Hall, 1980).

Los hongos generalmente tienen una A_h mínima mucho menor que la de las bacterias. Esto explica por que muchos productos libres de putrefacción debida a bacterias pueden ser echados a perder por hongos. El desarrollo de los hongos puede impedirse mediante la deshidratación de los productos agrícolas hasta un nivel inferior a 0.65 A_h y manteniéndolo por debajo de este nivel (FAO, 1991).

La refrigeración de los granos a temperatura de ≤ 5 °C ó menos permite el almacenamiento sin daño durante periodos prolongados, incluso, aunque el contenido en agua sea demasiado elevado para su conservación a temperatura ambiente. La velocidad de crecimiento de los hongos aumentan en proporción aproximada al contenido en agua sobre los niveles mínimos. Sin embargo, como cada hongo tiene un margen de a_a para crecer, puede tener lugar una selección de cepas que sea un reflejo de este efecto (ICMSF, 1980).

De los factores antes mencionados, la temperatura y la humedad están muy ligadas entre sí y tienen un efecto crucial sobre el crecimiento de los hongos y la formación de micotoxinas en los alimentos.

1.2.2 Temperatura.

Otro factor que determina el desarrollo de hongos es la temperatura; ésta es específica para cada uno de los diferentes géneros de hongos. Las temperaturas mínimas, óptimas y máximas para el desarrollo pueden diferir considerablemente de una a otra especie. Algunas especies pueden desarrollarse por debajo de 0 °C; otras tienen un mínimo de 10 °C. La mayoría de los *Penicillium* tienen un rango de temperatura mínima menor que la de los *Aspergillus*. La

temperatura óptima es de 25-30 °C para la mayor parte de los *Penicillium* y de 30-40 °C para la mayoría de los *Aspergillus*, (temperaturas que a menudo se alcanzan en los países tropicales).

En el cuadro N° 4. se muestran las temperaturas mínimas, óptimas y máximas para el desarrollo de hongos productores de micotoxinas. Varias especies del género *Fusarium* tienen rangos de temperatura óptimas que van de 8 a 15 °C y existen en áreas de clima templado (O.P.S; 1979., Pioja y Cervantes, 1989).

Cuadro N° 4. Temperatura mínima, óptima y máxima para el desarrollo de hongos productores de micotoxinas.

Hongos	Mínima	Óptima	Máxima
<i>Aspergillus restrictus</i>	5 - 10	10-35	40-45
<i>Aspergillus glaucus</i>	0-5	30-35	40-45
<i>Aspergillus flavus</i>	10-15	40-45	45-55
<i>Penicillium</i>	(-5) - (+5)	20-25	35-40
<i>Fusarium</i>	-3	20-25	31
<i>Fusarium culmorum</i>	0	25	31
<i>Fusarium oxysporum</i>	5	25-30	5
<i>Epicoccum nigrum</i>	(-3) - 4	23-28	45
<i>Alternaria alternata</i>	2.5-6.5	25-28	31

Fuente: Christensen y Sauer 1982.

En general, los hongos capaces de producir toxinas pueden crecer en condiciones diversas y sobre substratos variados (Christensen and Sauer, 1982).

Numerosos hongos productores de toxinas y sus metabolitos han sido identificados en diversos substratos. La mayoría de los mismos pertenecen a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* y son aislados con mayor frecuencia en granos de cereales y en maíz (Valle, 1991).

Por lo tanto, al igual que otros organismos, los hongos requieren para su desarrollo; alimento, agua, temperatura adecuada, oxígeno y tiempo para desarrollarse (Christensen and Kaufmann, 1976).

1.2.3 Sustrato.

Estos pueden ser sintéticos o naturales, líquidos o sólidos y de diferente naturaleza química. Esta última puede desempeñar una función importante, ya que hay productos más susceptibles que otros al ser contaminados por un hongo determinado; sin embargo, la mayor parte de los hongos pueden invadir numerosos sustratos, en general, tienen pocas exigencias nutricionales. Sus necesidades se limitan al carbono, nitrógeno y sales. Los carbohidratos y ácidos grasos en los medios de cultivo, aumentan la producción de toxinas (Hall, 1980; Behnke, 1992).

La producción de Aflatoxinas es mínima en productos de origen animal (jamón) y en otros productos como el té y especias. Por el contrario, esta producción puede ser muy alta en cereales y semillas oleaginosas, sin embargo, la soya es un mal sustrato, ya que se demostró que posee una cierta resistencia a la producción de aflatoxinas (Hall, 1980).

1.2.4 Nutrientes.

Se menciona que los sustratos ricos en carbohidratos y ácidos grasos aumentan la producción de toxinas, sin embargo, no todos influyen de la misma manera: la glucosa, fructuosa y sacarosa son adecuados para la producción de aflatoxinas cuando se emplea *Aspergillus flavus* mientras la manosa y xilosa se usan con éxito en el *Aspergillus parasiticus* (Ávila et al, 1990).

Existen otros nutrientes tales como aminoácidos (glicina, glutamato, aspartato, prolina y alanina) y cationes bivalentes (cadmio, magnesio y zinc) que en forma de sales incrementan la producción de aflatoxinas. Hay otros compuestos químicos que inhiben la producción de aflatoxinas ellos son: cafeína, nitrito de sodio, cloruro de sodio, ácido propiónico, hidróxido de amonio, bicarbonato de potasio y selenito de sodio (Ávila et al, 1990).

1.2.5 Intensidad de la luz.

La incidencia de la luz en el cultivo para la producción de aflatoxinas ha sido ampliamente debatida y depende del resto de los factores externos e internos del proceso fermentativo. En otros estudios obtuvieron resultados superiores cuando el cultivo estuvo bajo luz blanca perenne a 25 °C a 30 °C, la mayor producción de aflatoxinas fue en la oscuridad. Ya formada la aflatoxina, puede degradarse en el cultivo en presencia de la luz en función de su intensidad, el tiempo de exposición y la temperatura (Hall, 1980).

1.2.6 pH.

Durante el crecimiento de los hongos los valores de pH del medio pueden variar entre 4 y 5 como resultado de su metabolismo. El máximo crecimiento de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* ocurre entre los pH 5–8, se infiere que el pH está muy relacionado con el sustrato que se esté utilizando, ya que no existe un comportamiento homogéneo (Internacional Comisión on Microbiological Specifications of Microbiology for Foods, 1980).

1.2.7 Manejo.

El manejo de los granos y alimentos pecuarios, es uno de los principales factores que determinan el desarrollo de hongos productores de micotoxinas. Los almacenamientos deben tener diseños que satisfagan las condiciones esenciales de la conservación segura de los productos lo que implica que las estructuras deben construirse; completamente impenetrable por el agua, hermética para que la fumigación alcance a todo el contenido, dotadas de ventilación regulable, entre otros.

Es esencial que, en todos los almacenes que se manipulen granos alimenticios se cuente con un sistema de higiene y organización en el almacén.

Los tiempos de almacenamiento no deberán ser prolongadas. Y se debe de evitar almacenar los granos con humedades por arriba del 14 % (Hall, 1980).

1.3 Hongos típicos productores de micotoxinas.

Numerosos hongos productores de toxinas y sus metabolitos han sido identificados en diversos substratos. La mayoría de los substratos pertenecen a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* y son aislados con mayor frecuencia en granos de maíz.

En el cuadro N° 5. se presenta un resumen de hongos típicos y micotoxinas asociados con diversos productos agrícolas. Así mismo se puede observar que una misma toxina puede estar elaborada por especies diferentes, así como que una misma especie fúngica puede producir varias micotoxinas (Cristensen and Kaufmann, 1976).

Cuadro N° 5. Hongos típicos y micotoxinas asociados con diversos productos agrícolas.

Micotoxina	Hongo	Hongos	Alimento
Aflatoxinas	<i>Aspergillus flavus</i> * <i>A. parasiticus</i> * <i>Fusarium spp.</i>		Cacahuete, harina, nuez de brasil arroz, cebada trigo, avena.
Aleukia toxico alimenticio (ATA).	<i>Fusarium spp.</i> <i>Cladosporium spp.</i>		Granos y pasto bermuda.
Citrinina	<i>Penicillium citrinum</i> * <i>P. viridicatum</i> * <i>P. citre viride</i> <i>P. expansum</i> <i>Implicatum</i> <i>P. jensii</i> <i>P. lividum</i>	<i>P. notatum</i> <i>P. palitans</i> <i>P. steckii</i> <i>P. corylophilum</i> <i>P. candidus</i> <i>Aspergillus niveus</i> <i>A. terreus</i>	Pasto bermuda, centeno y arroz.
Alcaloides del cornezuelo	<i>Claviceps purpurea</i> <i>Fusarium spp.</i>		Centeno, otros granos, hierba y otros pastos
Ochratoxina	<i>Aspergillus ochraceus</i> * <i>A. melleus</i> <i>A. sulphreas</i> <i>A. cylopium</i>		Nuez del brasil, frutas de citricos, café y tabaco.
Patulina	<i>Penicillium expansum</i> * <i>P. cyclopium</i> <i>P. claviforme</i> <i>P. divergens</i> <i>P. equinum</i> <i>P. granulatum</i> <i>P. griseofulvum</i> <i>P. lanosum</i> <i>P. lapidosum</i>	<i>P. leucopus</i> <i>P. melinii</i> <i>P. novae-zeelandiae</i> <i>P. urticae</i> (<i>P. patulum</i>) <i>Aspergillus clavatus</i> <i>A. giganteus</i> <i>A. terreus</i> <i>Byssochlamys</i>	Jugo de manzana, varias frutas procesadas.
Ácido penicilínico	<i>Penicillium cyclopium</i> * <i>P. aurantio virens</i> <i>P. baarnense</i> <i>P. fennelliae</i> <i>P. janthinellum</i> <i>P. lividum</i> <i>P. martensii</i> * <i>P. palitans</i> <i>P. puberulum</i>	<i>P. roqueforti</i> <i>P. simplicissimum</i> <i>P. stoloniferum</i> <i>P. viridicatum</i> <i>Aspergillus ochraceus</i> <i>A. alliaceus</i> <i>A. melleus</i> <i>A. sclerotiorum</i> <i>A. sulphreas</i>	Granos, frijol tabaco.
Esterigmatocistina	<i>Aspergillus amstelodami</i> <i>A. chevalieri</i> <i>A. flavus</i> <i>A. nidulans</i> <i>A. versicolor</i> * <i>Penicillium luteum</i>		Granos, pastos, café y diversos alimentos.
Tremorgenos	<i>Aspergillus clavatus</i> <i>A. flavus</i> <i>A. fumigatus</i> <i>Penicillium crustosum</i> <i>P. cyclopium</i> <i>P. martensii</i>	<i>P. palitans</i> <i>P. paxilli</i> <i>P. puberrulum</i> <i>P. verruculosum</i> <i>P. rosellinia</i> <i>necatrix</i>	Varios mohos, arroz alimentos comerciales.
Tricotecenos	<i>Fusarium avenaceum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. equiseti</i> <i>F. roseum</i> <i>F. lateritium</i> <i>F. moniliforme</i> <i>F. oxysporum</i> <i>P. islandicum</i>	<i>F. poae</i> <i>F. solani</i> <i>F. sporotrichioides</i> <i>F. tricinctum</i> *	Gran variedad de granos y arroz.
Zearalenona	<i>Fusarium graminearum.</i> <i>F. Roseum</i> * <i>F. moniliforme</i> *	<i>F. oxysporum</i> <i>F. sporotrichioides</i> <i>F. tricinctum</i>	Varios granos

FUENTE: Christensen C. M. Kaufmann 1976

*Las especies más importantes productoras de toxinas.

CUCE



BIBLIOTECA C

Por lo consiguiente, cuatro son los factores que están vinculados estrechamente a la contaminación fúngica de los alimentos en el campo, así como durante el almacenamiento; Humedad, temperatura, oxígeno y tiempo. Otros factores que influyen en el crecimiento de los hongos son: la calidad del grano, la composición del sustrato, la capacidad genética del hongo y el empleo de sustancias químicas durante el almacenamiento (O.P.S, 1979; Campos, 1989).

Los principales hongos productores de micotoxinas, se encuentran agrupados dentro de la clase Ascomycetos cuando presentan su fase perfecta (sexual), o bien dentro de la clase Deuteromycetes cuando presentan su fase imperfecta (asexual). Así, se tiene que el orden Eurotiales agrupa hongos que viven en el suelo y en restos, o desechos de plantas y animales como saprofitos, sin embargo, pueden ser parásitos de plantas y animales e incluso del hombre.

El género *Aspergillus* fue descrito por primera vez hace 300 años y es un importante género en alimentos. Pocas especies han sido utilizadas en la producción de alimentos.

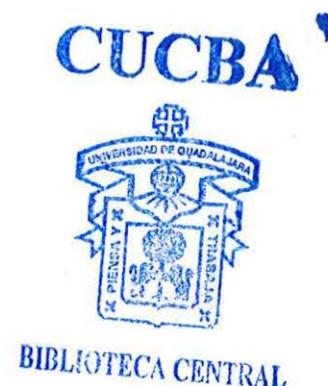
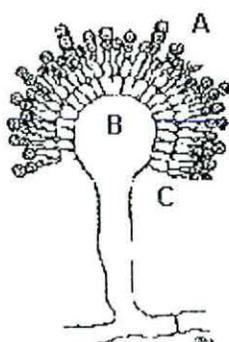
El *Aspergillus* es un género que contiene más de 100 especies reconocidas, la mayoría de las cuales crecen bien en cultivos de laboratorio. Aproximadamente cincuenta especies de *Aspergillus* se consideran capaces de producir metabolitos. En el cuadro N° 6 se muestran las características diferenciales en la morfología de los géneros de *Aspergillus* (Moreno, 1995).

Cuadro N° 6. Diferencias morfológicas del género de *Aspergillus*.

Especie	Conidia	Esclerotia
<i>A. flavus</i>	Lisa a moderadamente rugosa	Larga globosa
<i>A. parasiticus</i>	Marcadamente rugosa, poca variación en tamaño	Larga globosa
<i>A. nomius</i>	Similar a <i>Aspergillus flavus</i>	Pequeña elongada (forma de bala)

Fuente: Montville T. J., 1997

Entre los hongos que invaden granos almacenados tenemos a los grupos: *Aspergillus restrictus*, *A. glaucus*, *A. flavus*, *A. candidus*, *A. versicolor* y *A. ochraceus*. El *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, definitivamente es el grupo más importante de los *Aspergillus* toxigénicos, son considerados hongos aflatoxigénicos. Para su identificación se utiliza el agar, incubando a 30 °C de 42 – 48 horas. Ambos hongos producen colonias de color amarillo a naranja brillante. La textura de las paredes de la colonia en *A. flavus* es típica, usualmente lisa a rugosas, mientras que *A. parasiticus* son claramente rugosas, en la figura N° 1, se muestra la estructura morfológica del género de *Aspergillus* spp. (Moreno, 1995).

Figura N° 1. Características morfológicas del género de *Aspergillus* spp.

Microscópicamente, este género se caracteriza por cadenas de conidios (A), pequeños u ovals a esféricas sostenidas en cadenas en las puntas de fiálides radialmente ubicadas sobre la superficie de ápice (B), dilatado del conidióforo (C), denominado vesícula.

En 1929 se descubrió el género de *Penicillium*, con esto se impulsó a la búsqueda de otros metabolitos de *Penicillium* con propiedades antibióticas, reconociendo a la citrinina, patulina y griseofulvina como "antibióticos tóxicos" y más tarde se reconocieron como micotoxinas.

Actualmente la información sobre los hongos toxigénicos de *Penicillium* es abundante. Se ha demostrado que existen cerca de 120 metabolitos tóxicos para animales, 42 de los cuales son producidos por una o más especies de *Penicillium*. Por lo menos 85 especies de *Penicillium* se han considerado como toxigénicos. En la figura N° 2 se muestran las características morfológicas del género de *Penicillium* spp. (Romero, 1988; Koneman y Glenn, 1987).

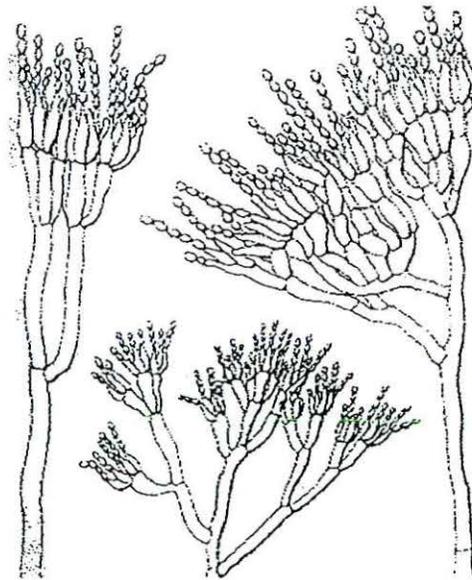


Figura N° 2. Características morfológicas del género de *Penicillium* spp.

Microscópicamente, el aspecto característico es la ramificación en forma de cepillo de los conidióforos (A), que se asemejan a los dedos de una mano.

El género de *Fusarium* es uno de los géneros con gran importancia, además del *Aspergillus* y *Penicillium*. Muchas de las especies de este género son patógenos de plantas, mientras que otros se consideran saprofitos, encontrándose la mayoría en suelos. La contaminación de alimento se presenta principalmente en granos de cereales, semillas oleaginosas y frijoles. Los granos como el maíz, trigo y sus productos son los que presentan mayor contaminación, aunque también se presentan en cebada, arroz, sorgo y avena (Romero, 1988; Koneman y Glenn, 1987).

Otros géneros importantes son *Alternaria*, especies de distribución mundial que se encuentra especialmente en suelos, restos de plantas y polvo. Otros géneros de interés son; *Acremonium*, *Chaetomium* y *Claviceps*, *Diplodia*, *Phoma*, *Rhizopus* y *Trichotecium*, entre otros.

En 1983, Nelson y colaboradores. Identificaron doce grupos del género de *Fusarium*. Solo cuatro de ellos se consideran principales especies toxigénicas, las cuales son; *Sporotrichiella* (*Fusarium sporotrichoides* y *F. poae*), *Gibbosum* (*F. equiseti*), *Discolor* (*F. graminearum* y *F. culmorum*) y *Liseola* (*F. moniliforme*, *F. proliferatum* y *F. subglutinans*) (William and Gary, 1981; Valle, 1991).

El género de *Fusarium* se caracteriza por la producción de hifas septadas, las cuales varían de blanco a rosa, o café, como resultado de la producción de pigmentos. La característica más común es la producción de esporas largas y septadas, de forma creciente, fusiforme o en forma de hoz, conocidas como macroconideas. La identificación de las especies de *Fusarium* se basa principalmente en la producción y en las características morfológicas de las

macroconideas y microconideas, así como en las estructuras estromáticas. En la figura N° 3 se muestran las características morfológicas del género de *Fusarium* spp. (Romero, 1988; Koneman y Glenn, 1987).

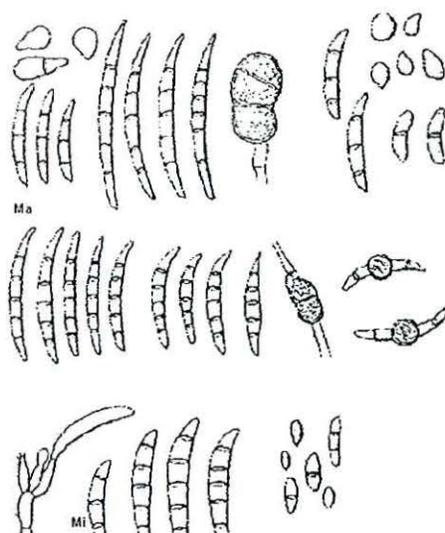


Figura N° 3. Características morfológicas del género de *Fusarium* spp.

Microscópicamente, el *Fusarium* es uno de los pocos hongos saprofitos que producen macroconidias (Ma) y microconidias (Mi). Microconidias unicelulares se originan en pequeñas cabezuelas en las puntas de fiálides cortas.

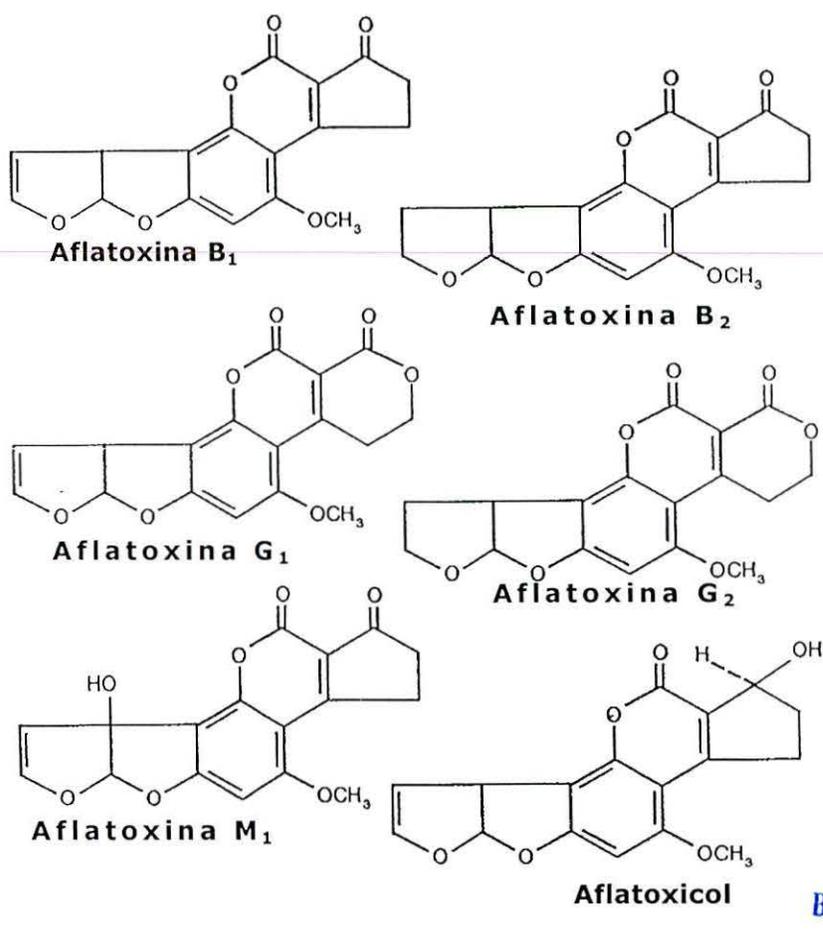
1.4 Propiedades físico-químicas de algunas micotoxinas.

Las micotoxinas son sustancias tóxicas producidas en el metabolismo secundario de los hongos que aparecen como contaminantes naturales en los alimentos cuando las condiciones climáticas son propicias (Abramson et al., 1982).

Durante los últimos 25 años se han estudiado aproximadamente 200 metabolitos tóxicos producidos por hongos, de los cuales las aflatoxinas son las que más preocupan en la actualidad a la producción pecuaria (Guzmán, 1989).

Las propiedades químicas de las aflatoxinas han sido denominadas B₁, B₂, por su fluorescencia azul (del inglés Blue), y G₁ y G₂ por la fluorescencia verde (del inglés Green), que presentan bajo la luz ultravioleta, y los subíndices se refieren a la movilidad cromatografía. Estos compuestos pueden separar o adicionar un radical alcohol, hidroxilo, oxidrio ó una doble ligadura, lo que da diferentes propiedades a cada uno de los compuestos. En la figura N° 4 se presentan las estructuras químicas de las diferentes aflatoxinas. Las aflatoxinas pueden formarse, en productos alimenticios antes y después de la cosecha (Valle, 1991; Rodríguez, 1995).





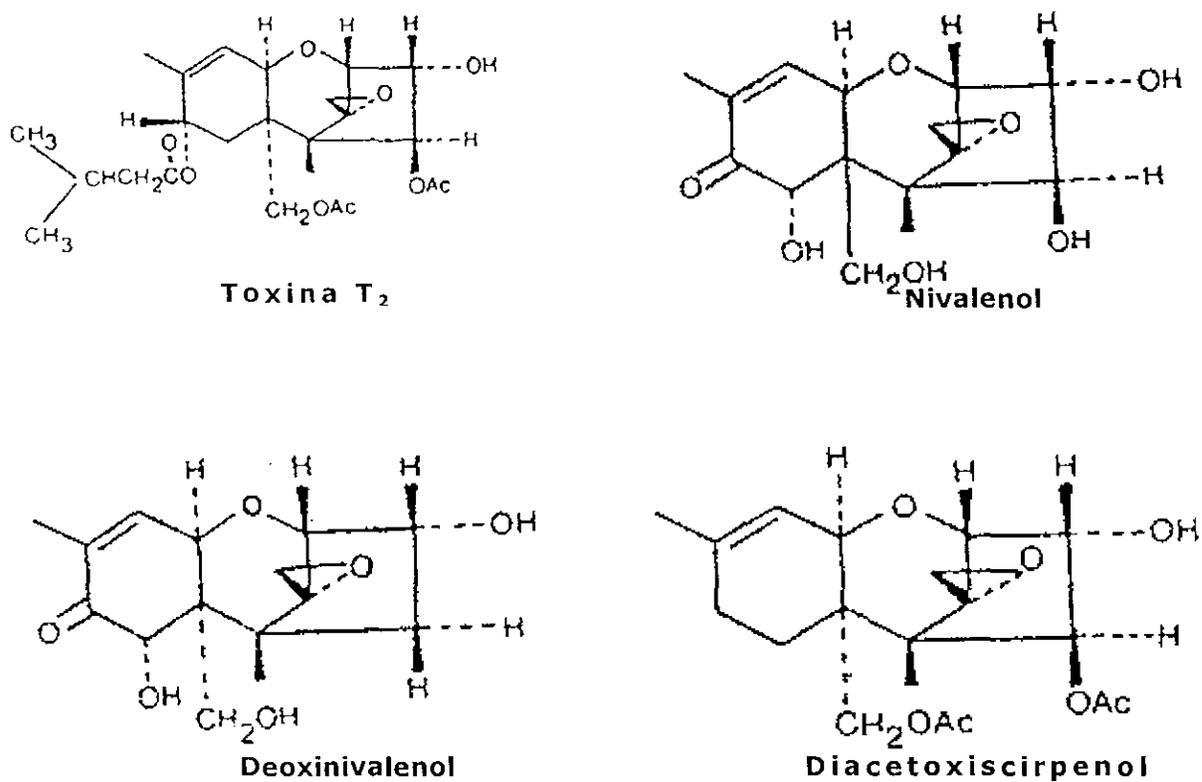
CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

Figuras N° 4. Estructuras químicas de las principales aflatoxinas

Las micotoxinas llamadas tricotecenos, producidas por los hongos del género *Fusarium*, pertenecen a un grupo de sustancias estructuralmente relacionadas. Hay aproximadamente 45 de estos compuestos que han sido identificados químicamente como sesquiterpenoide, con un enlace doble en C9 – 10 y un anillo epóxido en C12 – 13. (Figura N°5). Ello difiere uno de otro en el número y tipo de grupo funcional unido al anillo (Mclachlan et al., 1992).



Figuras N° 5 Estructura química de algunos tricotecenos.

Los principales tricotecenos que han sido aislados, y que son de importancia por sus efectos en animales y humanos, son; Deoxinivalenol o vomitoxina (DON), Nivalenol (NIV), Toxina T-2, Diacetoxiscirpenol (DAS), Neosolaniol, monoacetoxiscirpenol (MAS) y Fusarenona X (FX); siendo los más comunes los dos primeros (Abramson et al., 1993).

En ocasiones estos se agrupan en tricotecenos tipo A ó B (Scott et al., 1989). Sin embargo, hay algunas diferencias regionales en la ocurrencia de estos tricotecenos. Dentro de las especies más comunes productoras de tricotecenos se encuentran; *Fusarium 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 por una serie de oxigenaciones (Abramson et al., 1993).

Entre los tricotecenos más frecuentes está el deoxinivalenol (DON), producido por *Fusarium graminearum*; el maíz y el trigo son los más afectados. La contaminación con este hongo por lo regular ocurre cuando la cosecha es precedida de clima fresco y húmedo. Se ha encontrado frecuentemente la producción simultánea de DON y zearalenona (Kim et al., 1993).

La toxina T- 2 es producida principalmente por el hongo *Fusarium tricinctum* y fue el primer tricoteceno identificado como contaminante natural de los granos. Se le ha encontrado asociado con toxicosis letal en ganado lechero que ha consumido maíz contaminado con hongos (Strongman et al., 1990; Lauren et al., 1992).

Mediante los alimentos proporcionamos los nutrientes indispensables para el desarrollo y la reproducción de los animales domésticos, sin embargo, también existe la posibilidad de aportar mediante el alimento, compuestos tóxicos y microorganismos no deseables que pueden afectar la producción animal.

Los hongos pueden producir enfermedades en los animales por dos mecanismos: por invasión del organismo vivo (fungosis) y por producción de sustancias tóxicas en alimentos, que posteriormente, al ser ingeridas, producirán los efectos toxicológicos en los organismos (Osuna, 1994).

Sin embargo, las toxinas de los hongos pueden estar contenidas en las esporas y en sus micelios o bien ser excretadas como exotoxinas

en el sustrato de crecimiento. La absorción de una pequeña cantidad de toxina por el organismo causa generalmente una reacción en el tubo digestivo bajo la forma de hemorragias o necrosis. Además, se ha observado que una gran cantidad de estas toxinas poseen una alta especificidad por un órgano o tejido: el hígado, el riñón y el sistema nervioso son los más frecuentemente afectados (Miroch, 1990).

Las micotoxinas pueden ser carcinogénicas, hepatotóxicas, mutagenicas y nefrotóxicas; la toxicidad de éstas varía en un amplio rango de efectos a humanos y animales, que van desde la enfermedad crónica y la interferencia con la función reproductiva hasta la muerte (Mabbett, 1999).

Cuando las micotoxinas son consumidas por los animales domésticos, el compuesto o su metabolito es eliminado por la orina y heces fecales, pero también por la leche, constituyéndose así en un riesgo para la Salud Pública (García, 1995; Mabbett, 1999).

Los efectos observados en los animales domésticos intoxicados por micotoxinas son múltiples y variados, entre ellos encontramos reducción en la absorción de nutrientes, trastornos en la reproducción, disminución del consumo de alimento, inmunosupresión y altos índices de mortalidad (William and Gary, 1981).

Durante los últimos 40 años se han estudiado, aproximadamente, 300 metabolitos tóxicos producidos por diferentes especies de hongos.

CUCBA



Desde el punto de vista patógeno, pueden producir enfermedades en los animales por dos mecanismos: por invasión del organismo vivo (fungosis) o bien por originar sustancias llamadas toxinas, que posteriormente, al ser ingeridas, por los mismos producirán efectos toxicológicos (Valle, 1991).

Sin embargo, las toxinas de los hongos pueden estar contenidas en las esporas y en sus micelios, o bien ser excretadas como exotoxinas en el substrato de crecimiento. La vía de entrada en el organismo animal suele ser la digestiva, aunque pueden encontrarse otras vías. La absorción de una cierta cantidad de toxina por el organismo animal causa generalmente una reacción en el tubo digestivo bajo la forma de hemorragias o necrosis. Además, se ha observado que muchas de estas toxinas poseen una alta especificidad por un órgano o tejido, siendo los más afectados el hígado, riñón y sistema nervioso (William et al., 1981).

Por lo consiguiente, desde el punto de vista de producción animal, los hongos de mayor importancia son aquellos llamados de almacén, entre los que figuran los géneros de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, los cuales producen tóxicos tan agresivos como aflatoxinas, ochratoxina, el grupo tricotecenos (Toxina T-2, Nivalenol, Deoxinivalenol DON), patulina, citrinina, fumonisinas, etc; las cuales afectan la salud de los animales y el hombre (Fehlhaber and Janetschke, 1992).

1.5 Principales micotoxinas producidas por *Aspergillus*.

Casi cincuenta especies de *Aspergillus* se consideran capaces de producir metabolitos tóxicos, sin embargo, las de mayor importancia en alimentos de humanos y animales son las aflatoxinas (producidas

por *Aspergillus flavus*, y *A. parasiticus*), ochratoxina "A"; a partir del *Aspergillus ochraceus*, estirigmatocistina; producida primariamente por *A. versicolor* y el ac. Ciclopiazónico (*A. flavus*). La citrinina, patulina y ácido. Penicílico pueden producirse también por ciertas especies de *Aspergillus* (Moreno, 1988).

De manera similar a las especies de *Penicillium*, especies de *Aspergillus* producen toxinas que exhiben un amplio rango de toxicidad con efectos que llegan a ser significativos a largo plazo. La aflatoxina B₁ es la más potente carcinógeno hepático conocido que afecta a una amplia variedad de especies animales incluyendo humanos. La ochratoxina "A" y la citrinina que afectan la función del riñón. El cuadro N°7 muestra las principales micotoxinas producidas por *Aspergillus* y sus efectos tóxicos.

En condiciones favorables las micotoxinas pueden llegar a desarrollarse en forma elevada en 24 hrs., y los niveles máximos se alcanzan de 7 a 10 días.

Los efectos tóxicos de las aflatoxinas comúnmente observados en los animales incluyen desde la mal absorción de nutriente hasta la integridad tisular reducida (susceptibilidad en condiciones favorables) (Campos, 1989).



Cuadro N° 7. Principales micotoxinas producidas por *Aspergillus*, *Fusarium* y sus efectos tóxicos.

Micotoxina	Toxicidad	Especies Productoras
Aflatoxina B ₁ , B ₂	Daño hepático agudo, cirrosis teratogénica, inmunosupresiva.	<i>A. flavus</i> , y <i>A. parasiticus</i> .
Aflatoxina G ₁ , G ₂	Efectos similares a los de la aflatoxina B; la toxicidad de G ₁ es menor a los de B ₁ pero mayores que los de B ₂	<i>A. parasiticus</i> , <i>A. nominus</i>
Ácido ciclopiazónico	Degeneración y necrosis en varios órganos, tremorgénico, baja toxicidad oral.	<i>A. flavus</i>
Ochratoxina	Necrosis de riñón (especialmente en cerdos), teratogénico, inmunosupresivo.	<i>A. ochraceus</i>
Esterigmatocistina	Daños agudo de hígado y riñón, carcinogénico (hígado)	<i>A. versicolor</i> , <i>A. esmericella</i>
Neurotoxina	Leucoencefalomalacia	<i>Fusarium moniliforme</i>
Toxina T-2, Diacetoxiscirpenol y otros tricotecenos	Fusariotoxicosis	<i>Fusarium tricinctum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. colmorum</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. sierpe</i>
Zearalenona	Estrogenismo y vulvovaginitis por <i>Fusarium</i>	<i>Fusarium roseum</i> , <i>F. graminearum</i>
Vomitoxina (deoxinivalenol)	Vómitos y rechazo de alimento en los cerdos	<i>Fusarium roseum</i> , <i>F. moniliforme</i> .

Fuente: Montville T. J. 1997

Con relación a los problemas que ocasionan las micotoxinas en los animales los cuadros clínicos varían considerablemente, esto va a depender de; la especie, edad, sexo, raza, dosis, tiempo de la exposición y tipo de alimento que se administre. En los cuadros clínicos pueden presentar; magulladuras, susceptibilidad a agentes infecciosos, problemas reproductivos en hembras y machos, incremento en la sensibilidad a temperaturas extremas y acumulación de grasa en el hígado. Hay también una reducción en la síntesis proteica por inhibición de la RNA polimerasa (Stephano, 1989; Harvey and Kubena, 1990).

1.6 Principales micotoxinas producidas por *Fusarium*.

Dentro de las especies más comunes productoras de tricotecenos se encuentran: *Fusarium acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. crookwellense*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. poae*, *F. nivale* 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.

Estos tricotecenos son de importancia económica porque pueden contaminar alimentos. Estudios recientes han indicado que la contaminación de grano por tricotecenos, especialmente DON y NIV, es por todo el mundo, causando severa reducciones de producción en las cosechas (Abramson et al., 1993).

Por ejemplo, la roña de los cereales es causada por especies de *Fusarium* y algunas veces con efectos tóxicos en humanos y animales de granjas cuando consumen cereales contaminados por este hongo. *F. graminearum* es uno de los principales causantes de la roña de los cereales que producen tricotecenos, tales como Don, 15 -acetildeoxinivalenol (15 -ADON), 3 -ADON, NIV y fusarenona X además de zearalenona (ZEA). (Kim et al., 1993).

La toxina T-2 es una micotoxina producida por *Fusarium*, ha sido asociada con la gastroenteritis, las hemorragias intestinales y la muerte (Basilio, 1990). Una dieta con niveles altos de la toxina T-2 puede causar congestión e irritación en el hígado, los pulmones y el corazón (Medina et al., 1992; Díaz and Winston, 2000).

Deoxinivalenol (DON), es una micotoxina frecuentemente detectada y producida por *Fusarium*, conocida por el nombre de vomitoxina. En el ganado bovino DON ha sido asociada con una menor ingesta de alimento y una menor producción de leche. La información clínica proveniente de 300 casos que presentan más o menos 40000 registros de vacas mostraron que DON estaba asociada con la pérdida en la producción de leche, pero no establecieron una relación causa – efecto (Díaz and Winston, 2000).

En la India, se reportó una pérdida de 4 mil conejos que se le atribuyó al alimento contaminado con aflatoxinas (Voigt, 1981).

En Finlandia, murieron en una granja 250 aves. Se encontró esterigmatocistina otra micotoxina en el alimento a razón de 4 mg/kg (Campabadal, 1993).

En Rumania se informó que 8 cepas de *Penicillium oxalicum* produjeron ácido cecalónico D, cuando se cultivaron en trigo (Garnett, 1993).

En Europa Oriental, en Ucrania, entre 1979 y 1985 se observaron brotes atribuidos a toxinas, en particular el ácido kójico, formado por *Aspergillus flavus* aislado de salvado y soya rolada (Miroch, 1990; Osuna, 1994).

En Carolina del Norte, uno de los estados del Sureste de los Estados Unidos, productores de maíz estimaron que las pérdidas atribuibles directamente a la contaminación de hongos productores de aflatoxinas, en ese grano, fue cerca de los treinta y dos millones de dólares en 1977. Los costos asignados por la misma razón, en el estado de Georgia Estados Unidos en 1978, estuvieron cerca de

veintidós millones de dólares sólo para el maíz. Las pérdidas en Georgia Estados Unidos inducidas por la contaminación del cacahuate con hongos productores de aflatoxinas entre 1972 y 1973 se calcularon en doce millones de dólares (Peraza, 1990).

En algunas áreas de los Estados Unidos, últimamente la producción de aflatoxinas en maíz en el campo ha sido un serio problema particularmente en los estados del sureste en donde el maíz es ampliamente utilizado en la alimentación del ganado vacuno, lechero y de carne, cerdos y aves (Romo, 1992).

En la Universidad de Manhattan, Estados Unidos se realizó un estudio donde se sometió una cepa de *Aspergillus flavus* ATCC15517 a una temperatura de 25 °C y 7.2 °C bajo una humedad del 20 % durante 12 días de incubación demostrando la producción de aflatoxina B₁ y G₁ en una concentración de 8.4 mg en 1kg (Oldham et al 1971).

En Alemania se encontró que el 8.4 % de mil muestras de alimentos fueron positivas a tricotecenos, 15 muestras fueron positivas a zearalenona de 966 y 13.3 % de trigo, cebada y avena fueron positivas a ochratoxina "A" (Badria, and Shierwt, 1966).

En México el INIFAP (1996) realizó un estudio para la determinación de Ochratoxina "A" en sorgo, avena y cebada de algunas regiones productoras del país (Tamaulipas, Michuacan, Jalisco, Puebla y Tlaxcala), presentando concentraciones de 100 mg./Kg. de Ochratoxina "A" en los granos forrajeros (Márquez y Mococo, 1993).

En el estado de Sonora, en 1977, se menciona un brote de hiperestrogenismo en porcinos. Se identificó Zearalenona en el

alimento y se logró reproducir el problema en ratas gestantes. En 1978 se mencionó algunos casos de abortos causados por aflatoxinas en bovinos (Rosiles, 1989; Martínez 1994).

En México se han determinado la presencia de tricotecenos entre los cuales se presentan diacetoxiscirpenol especialmente en trigo y maíz (Basilico, 1990)

En Jalisco el primer semestre de 1998 se presentó un problema de contaminación con micotoxinas en un embarque de maíz. En este grano se detectaron aflatoxinas, citrinina, ochratoxina "A", zearalenona, toxina T-2 y vomitoxina. Las pérdidas económicas fueron considerables.

En Puebla un problema de contaminación con tricotecenos en una partida de maíz en marzo de 1999. Las lesiones que presentaron los animales que consumieron este grano fueron severas.

La industria avícola de Nuevo León se ha observado los efectos del ácido ciclopiazónico que se manifiesta principalmente por hematomas en los muslos, al consumir el alimento contaminado esta micotoxina (Medina 2000).

En México la comisión México-Estados Unidos para la prevención de fiebre aftosa y otras enfermedades Exóticas de los animales (CPA) solicitó los servicios de la clínica Ambulatoria para atender un brote de un síndrome del sistema nervioso central que afectaba principalmente equinos se sospecha de encefalitis equina, diagnóstico que fue descartado por medio de pruebas de laboratorio. Con la ayuda del laboratorio de Toxicología de la Facultad se comprobó la presencia de Fumonisin B1 producida por el hongo

Fusarium moniliforme, en el rastrojo que comían los animales. Registrando 120 equinos que murieron de leucoencefalomalacia causada por esta intoxicación.(SARH, 1988).

En el Distrito Federal, en un criadero de equinos del ejercito, se presento una enfermedad relacionada con la ingestión de alimento enmohecido en el cual se aislaron varios hongos conocidos como productores de micotoxinas (Aluja et al, 1970).

En una zona delimitada del Estado de Jalisco: Tecolotlán, Juchitlán, Ameca, El Arenal, Tenamaxtlán, Techaluta, Atoyac y Amatitan. Se han reportado casos de muertes en equinos por consumir maíz enmohecido. Presentándose todos los años generalmente en los meses más fríos del año (octubre a enero), después de la cosecha del maíz. Se identifico e l hongo del género de *Fusarium moniliforme* que produce una neurotoxina, causando leucoencefalomalacia con signos clínicos como; temblores musculares, debilidad, inestabilidad en el paso, caminar en circulo, imposibilidad para tragar y marcada depresión, la muerte puede ocurrir de 48 a 72 hrs. Después de ser ingeridos el alimento (SARH, 1988).

A éste síndrome se le conoce localmente como "Relampago" caracterizado por signos de encefalitis y un alto porcentaje de muertes. Se descarta la encefalitis dado que en la época en que se presentaron los casos los vectores (mosquito) no se encuentra presente en el medio ambiente (López y Chavira, 1994).

En Puebla se realizó un estudio donde se determino la producción de micotoxinas por cepas de *Aspergillus flavus*, esta cepa fue sometida a una temperatura de 28 °C. Se reporto que desde el primer día la cepa produjo aflatoxinas B₁, B₂ y G₁ (Fierro et al, 1999).

En el Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN unidad Irapuato, Guanajuato se realizó un estudio en 32 muestras de 4 variedades de maíz, provenientes de diferentes regiones del estado de Guanajuato, en donde se observó una alta incidencia del género de *Fusarium* y *Penicillium* (Guzmán, 1989).

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

1.7 OBJETIVOS.

1.7.1 Objetivo general.

Identificar la flora micológica y aflatoxinas presentes en alimentos balanceados, así como determinar el efecto de los factores ambientales sobre el crecimiento en maíz de cepas nativas toxigénicas de *Fusarium*.

1.7.2 Objetivos particulares.

1 Determinar la carga fúngica del sorgo, maíz y alimentos balanceados para aves y cerdos mediante recuentos de unidades formadoras de colonias (U.F.C./g).

2 Identificar las especies fúngicas más frecuentes en el sorgo, maíz y alimentos balanceados para aves y cerdos.

3 Cuantificación de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ en alimentos balanceados para aves y cerdos, maíz y sorgo por Cromatografía en capa fina.

4 Aislar de maíz cosechado en una región de Jalisco cepas de *Fusarium* productoras de Toxina T-2, Nivalenol. Deoxinivalenol y Diacetoxiscirpenol.

5 Evaluar la influencia de las condiciones de temperatura de -5 °C, 15 °C y 23 °C y humedad de 8%, 16% y 20% en el desarrollo de cepas de *Fusarium* en maíz.

1.8 HIPÓTESIS.

Ya que el manejo de maíz y alimentos pecuarios frecuentemente es inadecuado favoreciendo la contaminación y multiplicación de hongos micotoxigénicos, se puede comprobar la presencia de aflatoxinas en concentraciones objetables y la prevalencia de cepas de *Fusarium* toxigénicas adaptadas a condiciones ambientales regionales.



2. MATERIAL Y MÉTODOS.

El presente trabajo se llevó a cabo en el área de Micotoxicología del Departamento de Salud Pública de la División de Ciencias Veterinarias del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara.

2.1 Determinación de la carga fúngica en granos y alimentos balanceados.

Se obtuvieron 60 muestras de sorgo, 60 de maíz, 60 de alimentos balanceados para aves y 60 para cerdos, recolectadas entre el mes de junio y agosto. Estas fueron tomadas de comederos, tolvas y almacenamiento (encostalados y a granel), formando muestras compuestas de aproximadamente 2 Kgs. Estas fueron obtenidas con muestreadores de bayoneta en diferentes niveles y áreas, empleados para tal fin a partir de diferentes sitios en del producto muestreado de granjas de la periferia de Guadalajara. Se transportaron en bolsas de papel al área de micotoxicología para aplicar la técnica de que fueron procesadas por la técnica de vaciado en placa. Luego del crecimiento de las unidades formadoras de hongos se realizó el recuento utilizando un contador Québec y se obtuvo la carga fúngica de las muestras. El tiempo que transcurrió del muestreo al análisis para cuantificar e identificar las cepas fúngicas no fue mayor a las 72 horas (Pérez, 1989., Vanderzant, 1992).

2.2 Identificación de especies fúngicas.

La identificación de las especies fúngicas se realizó de acuerdo al método descrito por Koneman (1987). Se prepararon cajas petri con agar papa dextrosa, tomando con una asa de platino una pequeña

porción de esporas, se inocularon y se dejaron incubar durante 5 días a una temperatura de 25 °C. Los criterios que se utilizaron para identificar los géneros de hongos se basaron en la observación de las características macroscópica de las colonias (Liewen and Bullerman, 1992).

2.3 Identificación microscópica.

Para la determinación de las características microscópicas, y definición de los géneros de hongos productores de micotoxina, se prepararon frotis húmedos a partir de microcultivos mediante el método de Koneman (1987). Una vez desarrollados los hongos en el microcultivo, fueron teñidos con azul de lactofenol para poder observar su morfología al microscopio (Strongman et al, 1987; Moreno, 1988).

2.4 Determinación del grado de contaminación con aflatoxinas.

La determinación del grado de contaminación con aflatoxina B₁, B₂, G₁ y G₂ en sorgo, maíz y alimentos balanceados para aves y cerdos, se llevo acabo mediante el método de la técnica de cromatografía en capa fina (AOAC, 1990). Dicho método exige una gran limpieza de los extractos y por lo mismo se requiere de una columna cromatográfica para purificarlos. Los extractos purificados son concentrados y las aflatoxinas son detectadas por iluminación con luz ultravioleta después de ser separadas en cromatografía en capa fina. Esta técnica emplea un proceso complejo que requiere de aproximadamente, 4 horas para su realización. Dicho análisis ha probado ser una de las herramientas más confiables en la cuantificación de micotoxinas (Montemayor, 1994), llegando a

cuantificar niveles muy bajos de hasta 1 ug/100g (Williams, 1984; García, 1989; Scott et al 1989).

2.5 Determinación de los factores ambientales.

Para realizar esta etapa se obtuvieron muestras de maíz de la cosecha primavera – verano de una región determinada de Jalisco (Atoya), recolectando 60 muestras de maíz, formando muestras compuestas de aproximadamente 2 Kgs. fueron obtenidas con muestreadores de bayoneta en diferentes áreas y niveles de la bodega, de las cuales se aislaron las cepas nativas de *Fusarium*, mediante la técnica de vaciado en placa.

Una vez obtenidas las cepas de *Fusarium*, se procedió a realizar el trabajo de experimentación. Se obtuvieron muestras de maíz de tres calidades de la siguiente manera en forma arbitraria calidad A (bueno), calidad B (aceptable) y calidad C (malo), esto en base al aspecto general del maíz, En donde la calidad A se refiere al aspecto intacto del grano, la calidad B por su parte corresponde al grano mezclado con entero y quebrado y la calidad C al grano quebrado con impurezas y dañado.

El maíz obtenido se esterilizó para evitar contaminaciones con otras cepas de hongos y se inoculó con las cepas nativas de *Fusarium*, dejándolas incubar durante 5 días bajo las siguientes factores ambientales de temperaturas y humedad controladas; -5 °C, 15 °C y 23 °C y a una humedad de 8%, 16% y 20%, haciendo combinaciones entre las diferentes temperaturas y humedades formando 108 grupos en total (Figura N°6)

2.6 Determinación del grado de contaminación con las toxinas T-2, Nivalenol, Deoxinivalenol y Diacetoxiscirpenol.

La presencia de Toxina T-2, Nivalenol, Deoxinivalenol y Diacetoxiscirpenol se llevo a cabo mediante el sistema de cromatografía de afinidad inmunológica con detección fluorométrica, recientemente la tecnología de anticuerpos monoclonales ha sido aplicada a un método de cromatografía de inmunoafinidad en columna que purifica, aísla y concentra en un sólo paso las micotoxinas. Permite su cuantificación instrumental vía fluorómetro con confiabilidad.

2.7 Diseño experimental usado y análisis estadístico.

Diseño experimental usado. Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente bajo un diseño factorial completamente al azar (Steel y Torrie, 1985) con cuatro repeticiones por tratamiento.

El modelos es:

$$M=T+H+S+TxH+TxS+HxS+TxHxS+Eex$$

Donde:

M= Media

T= Temperatura

H= Humedad

S= Sustancia

Eex= Error experimental

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

Para realizar esta etapa, se llevó a cabo un monitoreo en una región determinada de Jalisco (Atoyac), recolectando 60 muestras de maíz, determinando las condiciones de almacenamiento; humedad, temperatura y condiciones de manejo del maíz del cual se aislaron

las cepas nativas de *Fusarium*, mediante la técnica de vaciado en placa.

Una vez obtenidas las cepas de *Fusarium*, se procedió a realizar el trabajo de experimentación, se obtuvieron muestras de maíz de tres calidades: A (bueno), B (aceptable) y C (malo), esto bajo los requisitos y condiciones de calidad para compra nacional de maíz. Se esterilizó para evitar contaminaciones con otras cepas de hongos, y se inocularon con las cepas nativas de *Fusarium* dejándolas incubar durante 5 días, bajo las siguientes factores ambientales de temperaturas y humedad controladas; -5 °C, 15 °C y 23 °C y a una humedad de 8%, 16% y 20%, haciendo combinaciones entre las diferentes temperaturas y humedades formando 108 grupos en total.

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

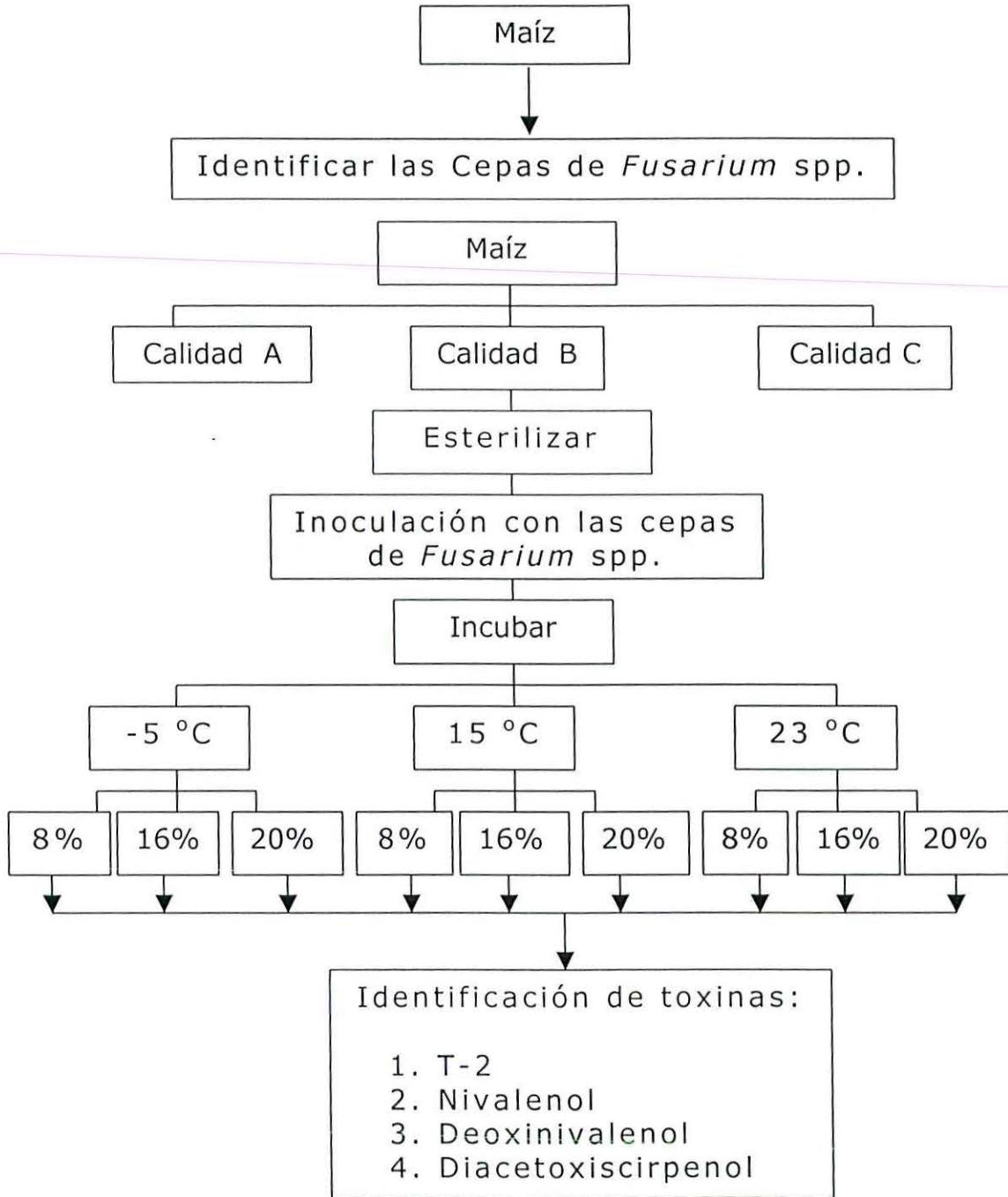
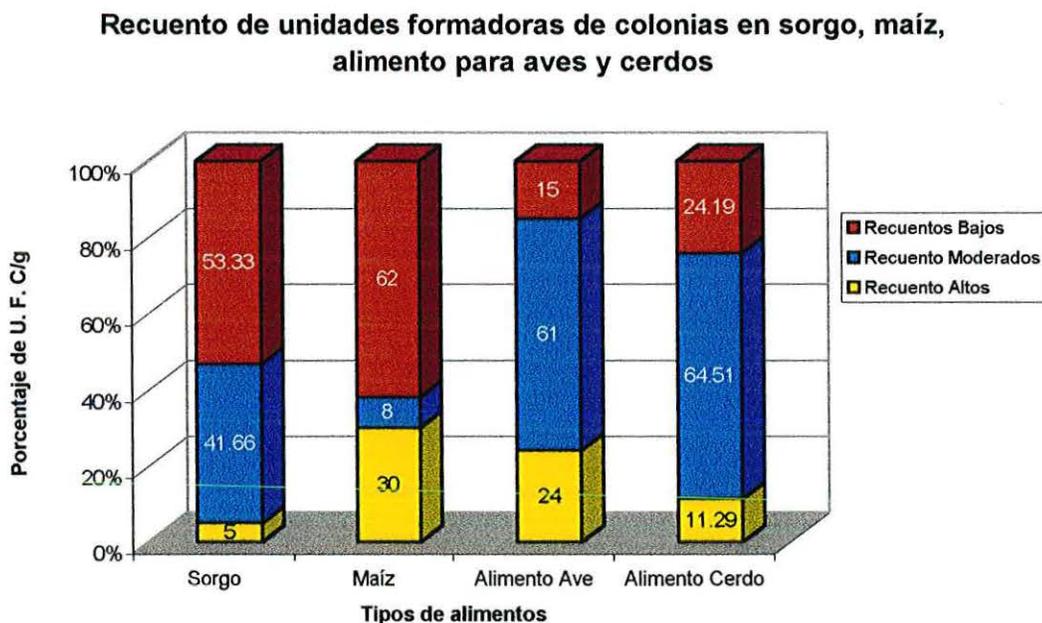


Figura 6. Metodología para evaluar condiciones ambientales para el crecimientos de cepas de *Fusarium*.

3 RESULTADOS.

3.1 Recuentos de unidades formadoras de colonias en sorgo, maíz, alimentos para aves y cerdos.

Del total de las muestras procesadas se obtuvieron los siguientes recuentos de unidades formadoras de colonias: En sorgo, recuentos altos (10^6 - 10^7 U.F.C./g) 5 %, moderados (10^4 – 10^5 U.F.C./g) 41.66 % y Bajos (10^2 – 10^3 U.F.C./g) 53.33 %. En maíz; recuentos altos 30 %, moderados 8 % y bajos 62 %. En alimento balanceado para aves; recuentos altos 24 %, moderados 61 % y bajos 15 %. En alimento balanceado para cerdos; recuentos altos 11.29 %, moderados 64.51 % y bajos 24.19 % (Gráfica N° 1).



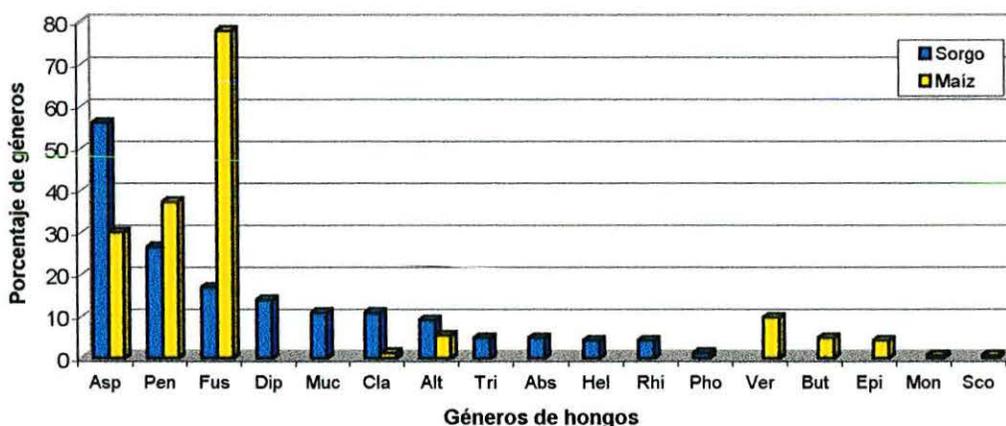
Gráfica N° 1. Se observa el porcentaje de Unidades formadoras de Colonias en comparación con el sorgo, maíz, alimentos balanceados para aves y cerdos.

3.2 Identificación de especies fúngicas en sorgo y maíz.

Se aislaron 285 cepas correspondientes a los siguientes géneros: en sorgo; *Aspergillus spp.* 56.07%, *Penicillium spp.* 26.4 %, *Fusarium spp.* 16.8 %, *Diplodia spp.* 13.8 %, *Mucor spp.* 10.8%, *Cladosporium spp.* 10.8 %, *Alternaria spp.* 9 %, *Trichoderma spp.* 4.8 %, *Absidia spp.* 4.8 %, *Helminthosporium spp.* 4.2 %, *Rhizopus spp.* 4.2 % y *Phoma spp.* 1.2 %. En maíz se aislaron 293 cepas correspondientes a; *Fusarium spp.* 78 %, *Penicillium spp.* 37.2 %, *Aspergillus spp.* 30 %, *Verticillium spp.* 9.6 %, *Alternaria spp.* 5.4 %, *Butyris spp.* 4.8 %, *Epicoccum spp.* 4.2 %, *Cladosporium spp.* 1.2 %, *Moniella spp.* 0.6 % y *Scopulariosis spp.* 0.6 % (Grafica N° 2).

Identificación de géneros: Asp= *Aspergillus*, Pen= *Penicillium*, Fus= *Fusarium*, Dip= *Diplodia*, Muc= *Mucor*, Cla= *Cladosporium*, Alt= *Alternaria*, Tri= *Trichoderma*, Abs= *Absidia*, Hel= *Helminthosporium*, Rhi= *Rhizopus*, Pho= *Phoma*, Ver= *Verticillium*, But= *Butyris*, Epi= *Epicoccum*, Mon= *Moniella*, Sco= *Scopulariosis*.

Frecuencia relativa de los diferentes géneros de hongos encontrados en sorgo y maíz



Grafica N° 2. Se muestra el porcentaje de las frecuencias relativas de los diferentes géneros de hongos encontrados en sorgo y maíz.

3.3 Identificación de especies fúngicas en alimentos para aves y cerdos.

En alimento balanceado para ave se aislaron 220 cepas correspondientes a *Aspergillus spp.* 36%, *Penicillium spp.* 24 %, *Cladosporium spp.* 12 %, *Fusarium spp* 7.8 %, *Alternaria spp* 7.8 %, *Trichoderma spp.* 7.2 %, *Absidia spp* 7.2 %, *Mucor spp* 7.2%, *Rhizopus spp.* 5.4 %, *Phoma spp* 5.4%, *Diplodia* 4.8%, *Epicoccum spp.* 3 % y *Paecilomyces spp.* 2.4 %, *Verticillium spp.* 1.8%.

En alimento balanceado para cerdos se aislaron 359 cepas correspondientes a; *Aspergillus spp.* 76.8 %, *Penicillium spp.* 64.2 %, *Fusarium spp.* 27 %, *Cladosporium spp.* 18.6 %, *Alternaria spp.* 12 %, *Phoma spp.* 10.2%, *Epicoccum spp.* 3.6 %, *Mucor spp.* 2.4 % y *Moniella spp.* 0.6 % (Grafica N° 3).

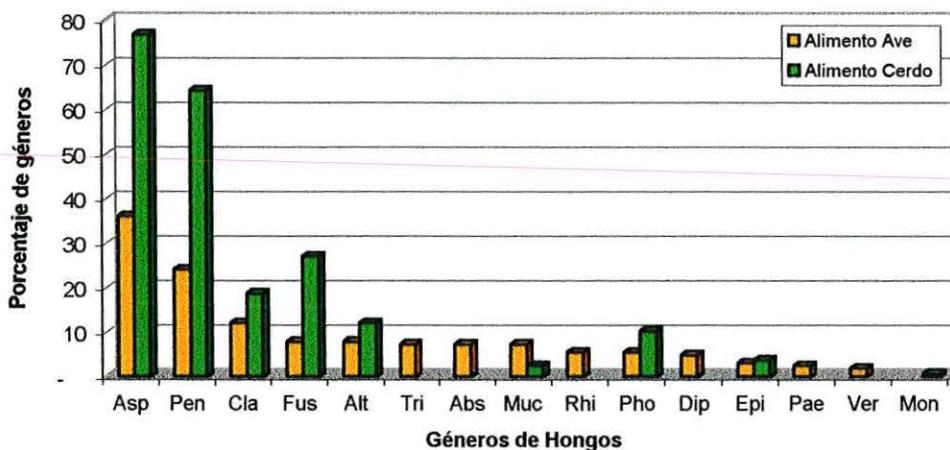
Identificación de géneros: Asp= *Aspergillus*, Pen= *Penicillium*, Cla= *Cladosporium*, Fus= *Fusarium*, Alt= *Alternaria*, Tri= *Trichoderma*, Abs= *Absidia*, Muc= *Mucor*, Rhi= *Rhizopus*, Pho= *Phoma*, Dip= *Diplodia*, Epi= *Epicoccum*, Pae= *Paecilomyces*, Ver= *Verticillium*, Mon= *Moniella*.

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

Frecuencia relativa de los diferentes géneros de hongos encontrados en alimento para aves y cerdos



CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

Grafica N° 3. Se presenta los diferentes porcentaje de las frecuencias relativas de los géneros de hongos encontrados en alimento para aves y cerdos.

3.4 Determinación de aflatoxinas en sorgo, maíz, alimento para aves y cerdos.

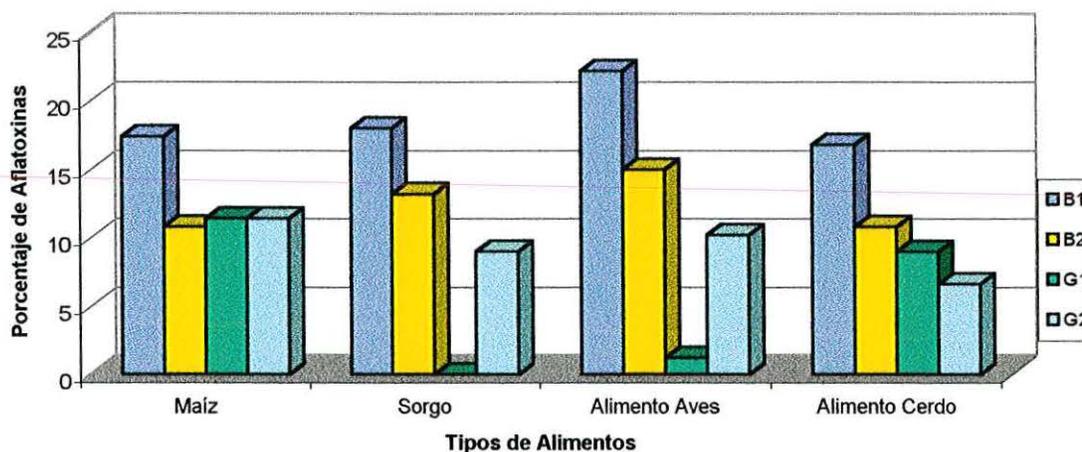
Del total de las muestras analizadas, 204 fueron positivas detectándose los cuatro tipos de aflatoxinas. La concentración que presentaron éstas variaron de 16 a 270 ppb con la siguiente distribución: En sorgo; B₁ 44.7 %, B₂ 32.8 % y G₂ 22.3 %. En maíz; B₁ 34.1 %, B₂ 21.1 %, G₁ 22.3 % y G₂ 22.3 %. En alimento balanceado para aves; B₁ 46.2 %, B₂ 31.2 %, G₁ 2.5 % y G₂ 20 %. En alimento balanceado para cerdos; B₁ 38.8 %, B₂ 25 %, G₁ 20.8 % y G₂ 15.2 % (Grafica N° 4).

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

Presencia de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ en sorgo, maíz, alimento para aves y cerdos



Grafica N° 4. Se muestran los porcentajes de la presencia de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ en sorgo, maíz, alimentos balanceados para aves y cerdos.

3.5 Evaluación de los factores ambientales.

En el análisis de varianza para determinar el efectos de las interacciones ambientales en la calidad de maíz, donde procedió, se aplicó la comparación de medias de Diferencias Mínimas Significativa (DMS) al nivel α de 0.05 ó 0.01.

En el cuadro N° 8, se observa que el factor T (Temperatura), el Factor H (Humedad) y el Factor C (Micotoxina), así como la interacción de los Factores TxH, TxC, fueron altamente significativo estadísticamente según DMS (α 0.01), en donde se mostró que el maíz de calidad C presento una mayor concentración de tricotecenos. Con un coeficiente de variación de 10.63%. De esto se desprende que, los factores ambientales sí son determinantes en el desarrollo de los hongos productores de las tricotecenos que

contaminan el maíz que se utiliza como base para la elaboración de raciones alimenticias para la nutrición animal.

Cuadro N° 8. Análisis de varianza para la Evaluación de los efectos ambientales en la determinación de la concentración de tricotecenos.

F.V	G.L	SC	CM	Fc	P>F
Factor T	2	229.907715	114.953857	765.7651	0.00 **
Factor H	8	139.939941	17.492493	116.5262	0.00 **
Factor C	3	27.859863	9.286621	61.8628	0.00 **
TxH	16	27.581543	1.723846	11.4834	0.00 **
TxC	6	2.652832	0.442139	2.9453	0.00 **
HxC	24	3.572266	0.148844	0.9915	0.523
TxHxC	48	11.330566	0.236053	1.5725	0.013 *
Error	324	48.637695	0.150116		
Total	431	491.482422			

C.V. = 10.629052 %

** = Significativo α 0.01

En el cuadro N° 9. se observa claramente que existen cinco grupos, formados por las interacciones de temperaturas y humedad, de los cuales el primer grupo esta formado por las interacción 12, 3 y 16, las interacciones 9 y 10 formando el segundo grupo, el tercer grupo esta formado por las interacciones 13, 2, 8, 15 y 6, el cuarto grupo esta formado por las interacciones 7 y 5, y la última interacción esta formado por 14, 4 y 1. De ahí se observa que la interacción más clara lo conforma el grupo uno y el grupo que presento menor concentración en la producción de tricotecenos fue el quinto grupo.

El género de *Fusarium* spp, productor potencial de tricotecenos presentó una mayor producción cuando fue sometido a temperaturas de 23 °C y una humedad de 20 %, no siendo así cuando fueron sometidos a una temperatura de -5 °C y una humedad de 8 %.

Cuadro N° 9. Comparación de medias en la interacción del factor Temperatura y Humedad en tres calidades de maíz (A, B, C) para la alimentación animal.

Tratamiento	Media	Grupos
12	4.62	A
3	4.57	A
16	4.56	A
11	4.30	AB
9	3.93	BC
10	3.87	BC
13	3.65	CD
2	3.64	CD
8	3.62	CD
15	3.60	CD
6	3.47	CD
7	3.15	DE
5	3.13	DE
14	2.78	E
4	2.72	E
1	2.64	E

DMS $= (\alpha 0.05) 0.5370$

Los valores de las medias con la misma letra son iguales estadísticamente.

En el cuadro N° 10. Se observa que existen tres grupos formados por las interacciones de temperaturas y concentración de tricotecenos, de lo cual el primer grupo esta formado por las interacción 3, las interacciones 5, 2 y 7, forman el segundo grupo y el tercer grupo esta formado por la interacción 1. Se observa que el grupo tres y la interacción uno es donde obtuvo una menor producción de tricotecenos.

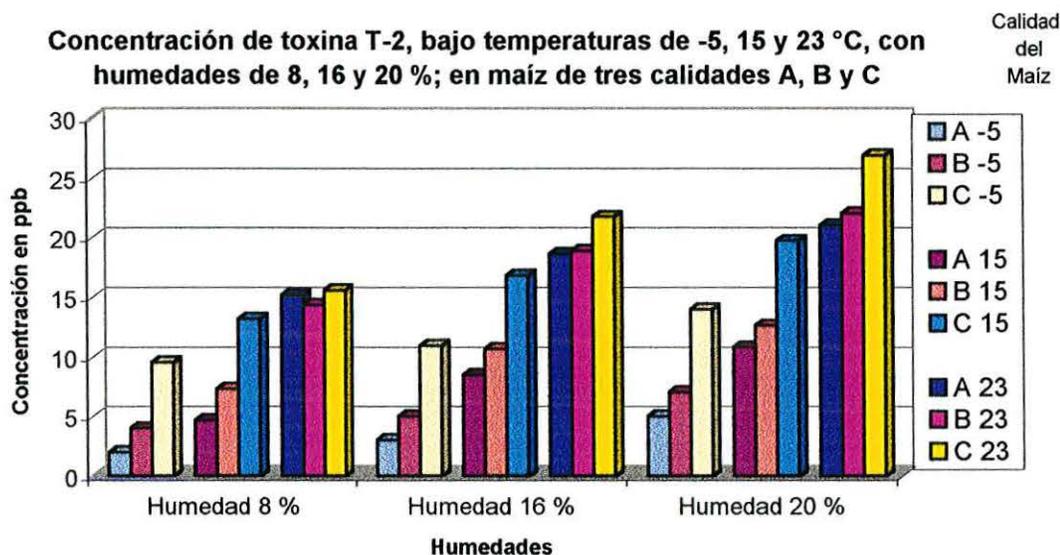
Cuadro N° 10. Comparación de medias en los factores de Temperatura y Concentración de Tricotecenos en maíz de tres calidades (A, B, C) para alimentación animal.

Tratamiento	Media	Grupos
3	4.56	A
6	4.04	AB
5	3.65	B
2	3.60	B
7	3.56	B
4	3.33	BC
1	2.78	C

DMS $= (\alpha 0.01) 0.7057$

Los valores de las medias con la misma letra son iguales estadísticamente.

El género de *fusarium* spp presentó una concentración de toxina T-2 alta en el maíz de calidad C, con una humedad del 20%, bajo una temperatura de 23 °C. El maíz de calidad B disminuyó la concentración de toxina T-2 cuando se sometió a una humedad del 16% y bajo una temperatura de 15 °C. En el maíz de calidad A fue el que presentó menor concentración de Toxina T-2, que las dos calidades de maíz anteriores, cuando se sometieron a una humedad del 8% bajo una temperatura de -5 °C. Este mismo comportamiento se presentó en la concentración de Nivalenol, Deoxinivalenol y Diacetoxiscirpenol (Graficas N°. 5, 6, 7 y 8)



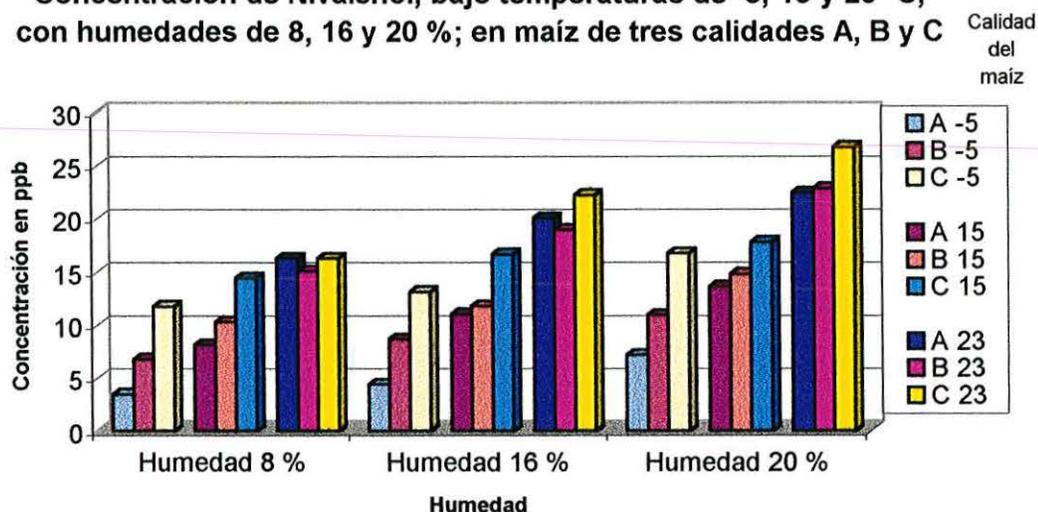
Grafica N° 5. Se presenta la concentración en ppb de la toxina T-2 bajo temperaturas de -5, 15 y 23 °C, con una humedad de 8, 16 y 20 %, bajo el comportamiento de las tres calidades de maíz.

CUCBA



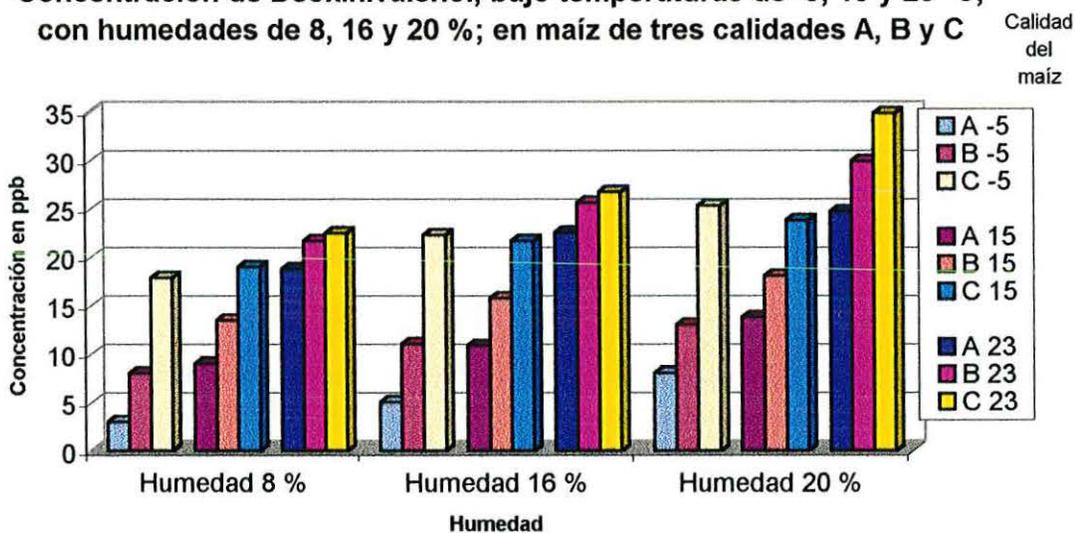
BIBLIOTECA CENTRAL

Concentración de Nivalenol, bajo temperaturas de -5, 15 y 23 °C, con humedades de 8, 16 y 20 %; en maíz de tres calidades A, B y C



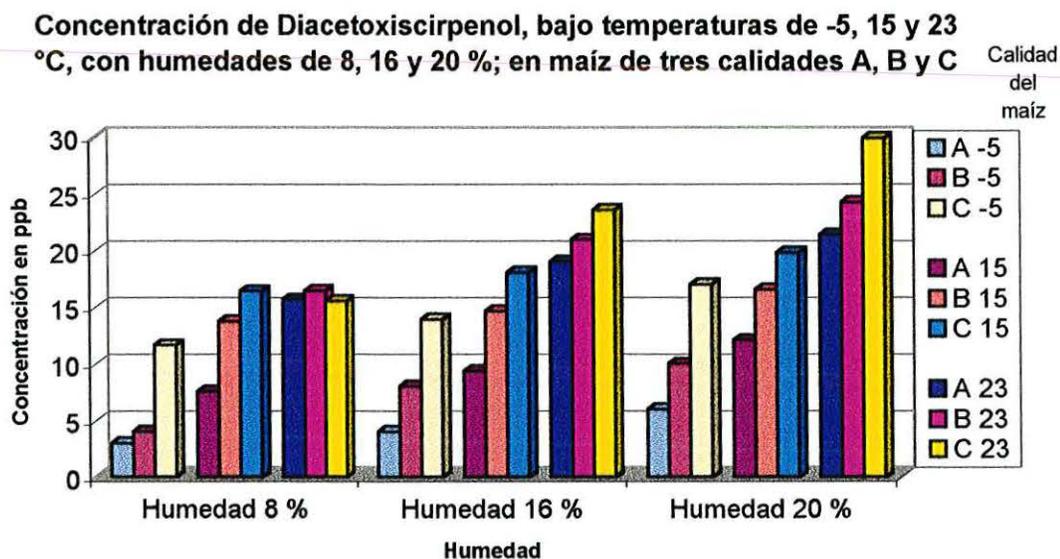
Grafica N° 6. Se presenta la concentración en ppb de Nivalenol bajo temperaturas de -5, 15 y 23 °C, con una humedad de 8, 16 y 20 %, bajo el comportamiento de las tres calidades de maíz.

Concentración de Deoxinivalenol, bajo temperaturas de -5, 15 y 23 °C, con humedades de 8, 16 y 20 %; en maíz de tres calidades A, B y C



Grafica N° 7. Se muestra la concentración en ppb de deoxinivalenol

bajo temperaturas de -5 , 15 y 23 °C, con una humedad de 8 , 16 y 20 %, bajo el comportamiento de las tres calidades de maíz.



Grafica N° 8. Se presenta la concentración en ppb de diacetoxiscirpenol bajo temperaturas de -5 , 15 y 23 °C, con una humedad de 8 , 16 y 20 %, bajo el comportamiento de las tres calidades de maíz.

4 DISCUSION

En el presente trabajo se utilizó sorgo, maíz, alimento balanceado para aves y alimento balanceado para cerdos, los cuales presentaron crecimientos de unidades formadoras de colonias en el cien por ciento de las muestras al darse las condiciones de transmisiones de las esporas de hongos. Algunos autores señalan que la estructura especializada que se conoce con el nombre de micelio aéreo puede ser transportada por las corrientes de aire. Las esporas micóticas son consideradas como resistentes debido a que permanecen viables bajo condiciones extremadamente secas. Como ejemplo se puede utilizar la liofilización ó la desecación, previo congelamiento de las preparaciones esporuladas de hongos. Aun cuando en este proceso se elimina completamente la humedad asociada a la spora, esta puede permanecer estable y viable durante muchos años si se almacenan mediante este procedimiento (Pioja, 1989; Wyatt, 1990).

Por razón de la distribución ubicuitaria de los hongos y esporas, existe en cualquier momento la posibilidad de la recontaminación, lo cual se presentó en el sorgo, maíz, alimento para aves y cerdos. Los silos de almacenamiento de granos son la fuente más común de contaminación con hongos, especialmente cuando éstos no están bajo un adecuado programa de conservación. El equipo de mezclado puede ser también un sitio de contaminación de los alimentos con hongos. Muchas veces los ingredientes son de excelente calidad, pero al entrar en contacto con residuos que se mantienen en las mezclas, se contaminan y afectan la calidad del alimento. Esta situación es bastante común en aquellas fábricas de alimento, en que agregan líquidos directamente a la mezcladora, por lo que se va formando un residuo en las paletas, aspas y esquinas de las

mezcladoras. Estos residuos con el tiempo, por su contenido de humedad y condiciones óptimas, permiten el desarrollo de hongos que contaminan el alimento (Behnke, 1992; Campabadal, 1993).

También se establece que no hay pautas establecidas que indiquen cuál es el recuento normal ó anormal de hongos. Algunos granos e ingredientes del alimento tendrán casi siempre recuentos altos, comparados con otros, sin embargo, las siguientes son normas aproximadas para la mayoría de los alimentos terminados; $10^2 - 10^3$ recuentos bajos, $10^4 - 10^5$ recuentos moderados, $10^6 - 10^7$ recuentos altos (Ávila, 1990). Se conoce que el cálculo del grado de contaminación de los hongos en los alimentos y granos es una tarea difícil, ya que no puede ser medido adecuadamente mediante la determinación directa de ciertos cambios ocurridos en el alimento como resultado de dicho crecimiento (Christensen, 1976).

Es importante observar la tendencia de incremento que siguen los recuentos de unidades formadoras de colonias en los resultados de esta investigación. Si un hongo esporula fácilmente, el hongo predominante en la muestra de alimento o de grano, hará que los recuentos de unidades formadoras de colonias sean muy altos. Y si el hongo predominante tiene una baja capacidad de esporulación el recuento será bajo. Este recuento bajo puede ocurrir en una muestra de alimento aún cuando el hongo de baja capacidad de esporulación ha crecido bastante (Vanderzant, 1992).

En este trabajo se encontró que en el alimento para aves los recuentos altos correspondieron al 24 %, los moderado 61 % y los bajos 15 %, en el alimento para cerdos los recuentos altos 11.29 %, moderados 64.51 % y bajos 24.19 %. La mayoría de las muestras se sometieron a tratamiento térmico para dar la presentación de pelet.

Estos, al ser sometidos a temperaturas de 82 a 83 °C, se espera que sus recuentos microbianos sean bajos (Behnke, 1992).

En este estudio se presentaron 285 géneros de hongos en sorgo, 293 géneros en maíz, 220 de alimento de aves y 359 de alimento en cerdos, esto concuerda con un estudio en donde más de 150 géneros de hongos han sido aislados de semillas de cereales, se han aislado decenas de miles de colonias de hongos filamentosos (Guzmán, 1989).

Con lo que respecta a los géneros de hongos encontrados considerados de campo y de almacén en este estudio se presentaron los dos tipos de hongos, esto se relaciona con un estudio realizado por Marquez 1993, donde menciona que los granos y las semillas son invadidas por diversos hongos en el campo, entre ellos: *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* y *Helminthosporium*, entre otros. Existen también los hongos de almacén, en la bodega, el silo y las troje siendo principalmente especies de *Aspergillus* y *Penicillium* (Moreno, 1988).

La principal diferencia que existe entre los hongos de campo y los de almacén son los requerimientos de agua para crecer; los de campo requieren humedades relativas de 90 a 100 %, en cambio los de almacén pueden crecer en humedades relativas de 65 – 90 %, condiciones de humedad muy frecuentes en el almacenamiento de granos (I.C.M.S.F. Internacional Commission on Microbiological Specification of Microbiology for Foods 1980).

En el presente trabajo las cepas aisladas con potencial producción de micotoxinas fueron; *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* en mayor porcentaje. La frecuencia del género *Aspergillus* en que se encontró

en el sorgo, alimento para aves y cerdos es considerable. Sanchis (1982) reportó que en granos almacenados se aislaron cepas fúngicas correspondientes a: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Esto concuerda con el presente trabajo al encontrar estos géneros en el sorgo, maíz, alimento para aves y alimento para cerdos en diferentes porcentajes entre otros géneros reconocidos como productores de micotoxinas (Hess, 1994).

Las evidencias actuales que se tienen sobre la importancia de los diferentes hongos toxigénicos que invaden a los granos indican que los géneros más importantes son: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, lo cual fue señalado por Brook y White en 1968. Encontraron que estos tres géneros comprendían el 58 % de 943 géneros de hongos a los que les probaron su toxicidad (Moreno, 1989).

Oldham (1971) indicó que los hongos del género *Fusarium* y *Cladosporium* fueron incriminados como causa de un problema, siendo estos hongos muy resistentes al frío, estos requieren temperaturas bajas como las de refrigeración para producir toxinas. Los hongos esporulan entre 1 y 4 °C y producen su toxina entre -2 y 10 °C.

Las especies de *Aspergillus* que son más comunes en granos y semillas almacenados son: *Aspergillus restrictus*, *A. glaucus*, *A. versicolor*, *A. ochraceus* y *A. flavus*. Todos estos géneros están formados por diversas especies con gran relación en cuanto a su morfología y ecología (Mabbett, 1999).

El *Aspergillus candidus* crece a una temperatura de 24 – 26 °C y con una humedad de 14 – 16 %, en soya de 14 – 15 % y en cacahuete de

7-8 %. El *Aspergillus flavus* requiere de una humedad relativa de 80-85% en cereales y un contenido de humedad de 16-18 %, en cacahuete de 8-10 % su desarrollo contribuye al calentamiento de los granos. *Aspergillus glaucus* requiere de una humedad relativa de 15 % y crece en cereales con contenidos de humedad muy bajos, como 13-14 % (Moreno, 1988; Mirocha, 1990).

El *Penicillium* es considerado un hongo de almacén y de campo. Las especies que se consideran de almacén, requieren que los productos que invaden tengan contenidos de humedad en equilibrio con humedades relativas de 85-90 %. Estos hongos pueden crecer a temperaturas muy bajas (-2 °C). A ciertas especies se les considera hongos toxigenos, capaces de producir diversas micotoxinas entre ellas, patulina, ochratoxina, citrinina, ácido penicílico y rubrotoxina, entre otras (Moreno, 1988).

En el presente trabajo, al determinar los géneros, se encontró *Alternaria* con los siguientes porcentajes; en sorgo 9 %, maíz 5.4 %, alimento para aves 7.8 % y en alimento para cerdos 12 %. Basilico (1990) reporto la presencia de hongos de campo en trigo y maíz. Se encontró al género *Alternaria* prácticamente en el 100 % de las semillas de trigo. Especies de este género de *Alternaria* son muy comunes en cereales, produciendo la toxina del ácido tenuazónico, producido por *Alternaria alternata*. Christensen, en 1978; mencionó que en el campo los hongos invaden las semillas cuando aún están desarrollándose en la planta o después de madurar, pero antes de la recolección (Franco y Rosiles, 1995).

Cladosporium es un hongo de campo, que sin embargo, se le ha encontrado en mazorcas de maíz que se almacenan con altos

contenidos de humedad. Tiene la capacidad de crecer a bajas temperaturas aún bajo 0 °C (Moreno, 1988).

Diplodia maydis, es un patógeno importante del maíz. Las mazorcas infectadas con *Diplodia maydis* pueden causar micotoxicosis al ganado vacuno y ovino que las ingiere Díaz (2000). Este hongo causan tizón de las plántulas, pudrición del tallo y de la mazorca (Moreno, 1988).

En el presente trabajo, del total de las muestras analizadas (240), 204 fueron positivas detectándose los cuatro tipos de aflatoxina. La que se presentó con mayor frecuencia fue la B₁, con la siguiente proporción; en el sorgo 44.7 %, maíz 34.1 %, en el alimento para aves 46.2 % y en el alimento para cerdos 38.8 %. Esto concuerda con estudios realizados por Guzmán (1989) donde menciona que la principal aflatoxina que se produce en el medio natural es la B₁ y G₁, y sus hidroxiderivados B₂ y G₂, de las cuatro aflatoxinas la más tóxica es la B₁, considerándose el agente carcinogénico más potente que existe en la naturaleza. Por esta razón se le ha estudiado con más profundidad y la mayoría de los efectos bioquímicos notificados se refieren especialmente a esta toxina (Guzmán, 1989., Pheips, 1991).

Las aflatoxinas se han encontrado cada vez con mayor frecuencia en alimentos que se guardan en condiciones de humedad y temperatura favorables a su desarrollo. Al determinar la presencia de las aflatoxinas, en sorgo, maíz, alimento para aves y cerdos, se detectaron las 4 aflatoxinas en concentraciones consideradas fuera de norma. Esto se relaciona con estudios realizados por Rosiles en 1989, en donde determinó la presencia de estas aflatoxinas en ensilado de maíz (Peraza, 1990; Rosiles, 1997).

Con lo que respecta a los niveles encontrados se presentó una variabilidad de 16 a 270 ppb consideradas totalmente fuera de la norma internacional. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimento (FAO) fija como límite máximo de aflatoxinas la cantidad de 20 ppb (FAO Alimentación y nutrición, 1991) .

Nestt, en 1962, aisló aflatoxinas de filtrados producidos por hongos usando técnicas de cromatografía en capa fina y en columna (Abramson et al, 1982).

La importancia del presente trabajo radicó en determinar aflatoxinas en el alimento para aves, que se constituye en un serio problema de Salud Pública al encontrar estos residuos tóxicos en carne y huevo. Campos (1989) Se sabe que las aflatoxinas son eliminadas a través de la bilis, de la orina y de las heces Valle (1991). El huevo podría representar otra posible vía de eliminación de las aflatoxinas. Esto fue confirmado por Trucksess en 1983, encontrando la presencia de aflatoxinas B₁ en huevos puestos por gallinas que se alimentaron con aflatoxinas por 7 días (Howarth, 1976).

Montemayor A., en 1993, determinó la importancia de las aflatoxinas en la salud humana y en la producción animal, y manifiesta que al ser ingerida la aflatoxina B₁ por mamíferos, es biotransformada y excretadas como aflatoxina M₁ en leche. Aunque la aflatoxina M₁ es menos tóxica que la aflatoxina B₁, también representa un riesgo potencial para la Salud Pública (Montemayor, 1993; Pheips, 1991).

Existen referencias de diversos países sobre la incidencia de aflatoxinas en leche, queso y yogurt Díaz (2000), en México se desconoce la magnitud del problema (Romo, 1992; Van Diuk, 1984).

Las siembras de maíz en México ocupan una superficie de casi 8 millones de hectáreas, con una producción aproximada de 14 millones de toneladas Rodríguez (1995). Entre los factores que afectan la producción y calidad del grano, destacan por su importancia las enfermedades que atacan la mazorca, *Fusarium moniliforme* es un hongo contaminante frecuente y casi universal del maíz (Rodríguez et al. 1995).

En el presente trabajo se detectaron los siguientes tricotecenos, Toxina T-2, Nivalenol, Deoxinivalenol y Diacetoxiscirpenol en el maíz contaminado con cepas de *Fusarium* spp. Esto concuerda con Basilico (1990) en donde mencionó que entre los tricotecenos más frecuentes está el Deoxinivalenol, producido por *Fusarium graminearum*; el maíz y el trigo son los más afectados. La contaminación con este hongo por lo regular ocurre cuando la cosecha es precedida de clima fresco y húmedo. Se ha encontrado frecuentemente la producción simultánea con Deoxinivalenol y zearalenona (Voigt et al, 1981)

La toxina T-2 es producida principalmente por el hongo de *Fusarium tricinctum* y fue el primer tricoteceno identificado como contaminante natural de los granos Díaz (2000). Se le ha encontrado asociado con toxicosis letal en ganado lechero que ha consumido maíz contaminado con hongos Rosiles (1994). Desde el punto de vista de la producción animal, los hongos de mayor importancia son aquellos llamados de almacén, entre los que figuran los géneros de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, como se mencionó con anterioridad, los cuales producen tóxicas tan agresivas como aflatoxinas, Ochratoxinas, el grupo Tricotecenos (Toxina T2, Nivalenol Deoxinivalenol DON, Diacetoxiscirpenol), Patulina

Citrinina, Fumonisinias etc; las cuales afectan la salud de los animales y el hombre (Díaz y Winston, 2000).

En los resultados de este trabajo se mostró que las temperaturas de 15 y 23 °C fueron las que presentaron mayor producción de tricotecenos y en menor porcentaje los que se sometieron a -5 °C, esto concuerda con Badria (1996) en donde mencionó que la producción de tricotecenos depende, entre otros factores, de las fuentes de nutrición disponibles, temperatura, y valores de pH y a_w del sustrato. La temperatura óptima para la formación de toxina T-2 es de 8°C. Debido a sus distintas temperaturas óptimas, las toxinas fusáricas se consideran toxinas de clima templado, mientras que las aflatoxinas lo son de climas tropicales y subtropicales (Fehlhaber, and Janetschke, 1992).

En el presente trabajo se determinó que el mayor porcentaje de humedad, como en 16 y 20 %, son las que presentaron mayor producción de tricotecenos, y en la humedad del 8 % también se presentó producción de tricotecenos en menor porcentaje. Estos resultados están relacionados con lo que menciona Abramson, (1982) que la humedad, en particular la existente en la superficie de un alimento, favorece la proliferación y producción de toxina de los hongos. Sin embargo, en comparación con las bacterias pueden éstos mantener todavía su metabolismo con valores a_w relativamente bajos y formar toxinas. Las necesidades mínimas de humedad para generar toxina son por lo general algo mayores que las requeridas para el crecimiento de hongos (Fehlhaber and Janetschke, 1992; Estrella et al, 1992).

Apartir de las muestras utilizadas para la determinación de Fusarium se desprende que las condiciones climáticas de esa región en

particular durante el cultivo y cosecha del maíz permitieron el desarrollo de hongos generadores de micotoxinas.

Las normas sanitarias de cada país establecen los límites máximos permitidos de micotoxinas en alimentos para animales. En México hay un anteproyecto de Norma Mexicana titulado Control de Aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal, disposiciones y especificaciones sanitarias (1997), la cual, aun permanece como anteproyecto. Para algunas micotoxinas se aceptan los límites establecidos por el CODEX Alimentarius o por otras naciones, en cualquier caso el producto mexicano se encuentra desprotegido al no haber normas que puedan aplicarse y al no haber una instancia oficial que dictamine sobre los límites máximos permitidos de micotoxinas en alimentos para animales (NOM SSA, 1997).

Es importante la necesidad de contar con alimento libre de contaminación por hongos y sus metabolitos en la alimentación del hombre y los animales, los resultados del presente trabajo muestran un grado de contaminación dada que la evidencia permite establecer un conocimiento sobre su grado de contaminación y factores del medio ambiente que predisponen a favorecer la contaminación de estos alimentos mostrando un serio problema de Salud Pública, por lo consiguiente se hace necesario el continuar con estos estudios sobre estos agentes e incluyendo otras variables que pueden ayudar a mantener un control sobre los factores que determinan la contaminación.



5 CONCLUSIONES

BIBLIOTECA CENTRAL

1. Del 100 % de las muestras procesadas se obtuvieron recuentos de unidades formadoras de colonias, observando que en el maíz fue el que presentó recuentos de unidades formadoras de colonias en mayor porcentaje, seguido del alimento para aves. El alimento para cerdos y el sorgo también mostraron recuentos de unidades formadoras de colonias en porcentajes más bajos. Lo que refleja un mal manejo.
2. Se aislaron e identificaron los géneros de *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* y *Fusarium spp.* en mayor proporción en el sorgo, maíz, alimento para aves y cerdos considerados como productores potenciales de micotoxinas.
3. De las 240 muestras analizadas, 204 fueron positivas, detectándose los cuatro tipos de aflatoxinas. Las concentraciones encontradas son sumamente elevadas y se consideran en su totalidad fuera de norma, éstas variaron de 16 a 270 ppb.
4. Las toxinas fusáricas se consideran de climas templados, presentándose en mayor porcentaje cuando se sometieron a temperatura de 23°C, siguiendo 15°C y en menor porcentaje en -5°C.
5. Al someter el género de *Fusarium spp.* a humedades de 8, 16 y 20 %, se mostró que este género produjo la sustancia tóxica en mayor porcentaje en la humedad de 16 y 20 y en menor porcentaje en 8 %.
6. El maíz que se utilizó como sustrato para la inoculación del género de *fusarium* mostró una mayor producción de tricotecenos en

el de calidad C (malo), seguido del B (aceptable) y por último el de calidad A (bueno).

7. Las cepas nativas de los géneros de *Fusarium spp*, obtenidas de la región de Atoyac, Jalisco, mostraron un comportamiento diferente cuando fueron sometidos a los factores ambientales.

8. Se determinó la presencia de la Toxina T-2, Nivalenol, Deoxinivalenol y Diacetoxiscirpenol en concentraciones que se consideran fuera de norma y de riesgo.

9. En este estudio se refleja que los granos y alimentos pecuarios presentaron una contaminación de hongos y a su vez de aflatoxinas en niveles altos. En las condiciones ambientales se mostró que el género de *fusarium* aunado a la calidad del maíz produjo niveles considerados de tricotecenos al ser sometidos a rangos amplios de humedades y temperaturas. Por lo que es de esperarse que la alimentación de los animales con estos niveles de contaminación muestren un retraso en su producción. Y por lo tanto los productos de origen animal con residuos de estas sustancias toxicas significan un riesgo a la salud de los consumidores.

6. BIBLIOGRAFÍA.

1. Abramson D. J., Sinham R. N., Mills T., 1982., "Mycotoxin formation in moist wheat under controlled temperatures mycopathologia"., *Advances en nutrition animal*. Editorial Acribia Zaragoza España. Pag. 65 – 66.
2. Abramson, D., Clear R.M., and Smith D.M. 1993., "Trichothecene production by *Fusarium spp.* Isoleted from Manitoba grain". *Can J. Plant Pathol.* 15: 147 – 152.
3. Aluja S. A., Hussainl S. N., López F. L. C., 1970., "Micotoxicosis como probable causa de muerte en caballos"., *Revista Veterinaria Mexicana* Vol. 1. N°1 Pag. 16 – 19
4. Ávila G. E., Shimada A., Llamas G., 1990., "Anabólicos y aditivos en la producción pecuaria" *Sistema de educación continua en producción animal en México A.C.*, Pág. 13-20.
5. Badria F. A., Shier W. T., 1996., "Fumonisins as potential causes of kidney disease"., *J. toxicol* 15 (3): 273 – 292.
6. Basilico J. C. 1990., " Estudio de alimentación subcrónica con diacetoxiscirpenol,+ Ochratoxina A en ratas Wistar"., *Revista Veterinaria Mexicana* Vol. 43 (2): pág. 17 – 19.
7. Behnke K. C., 1992., "Factores que afectan la calidad del pelet"., *Revista.*, *Asociación Americana de la Soya* N° 103 Pág. 1 – 11.

8. Bueno O. L., DÍa G.M.C., 1989., "Perdida de la Materia seca en el maíz provocada por mohos" ., Revista., Tecnología Cubana Porcicultura Mexicana Año 1 N° 1 Vol. 1 Pág 10 - 15.
9. Campabadal C.M., 1993., "Las micotoxinas, un serio problema en la avicultura centroamericana"., Revista., Asociación Americana de la soya N° 122 Pág. 3 - 5.
10. Campos N. G. E., 1989., "Problemas Ocasionados por Hongos y sus Toxinas en la Reproducción de cerdos"., Revista., Porciraama Año 7 Vol. N° 77 Pág. 26-29.
11. Christensen C. M., and Kaufmann 1974., "Micoflora"., Ed. Storage of Cereal Grains and their products., American Association of Cereal Chemists, St. Paul. Pag. 110 - 112.
12. Christensen C. M. and Kaufman H.H., 1976., "Contaminación por hongos en granos Almacenados"., Editorial., Pax - México Pág. 17-32-38-57-67.
13. Christensen C. M., and Sauer D.B., 1982., "Micoflora"., In C.M. Christensen (Ed.) Storage of Cereal Grains and their products. 3 Ed. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul. Minn Pag. 219 - 240.
14. Díaz E. D. and Winston M., 2000., Micotoxicosis en Bovinos., Memorias del XXIV Congreso Nacional de Buiatría., Pág. 51 - 3.
15. Estrella M., Zaldivar V. Muñoz C. M. Lon - Wo E., Gómez N. y Escobar A. 1992., "Descontaminación de aflatoxinas en alimento

para animales con el uso de Zeolitas Naturales Cubanas"., Revista Salud Animal N° 14 pág. 171 – 180.

16. FAO: Alimentación y Nutrición., 1991., "Manuales para el control de calidad de los alimentos, 10. Capacitación en análisis de micotoxinas"., Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación Pág. 7-9.

17. Fehlhaber K and Janetschke P., 1992., "Higiene veterinaria de los alimentos"., Editado. Acribia Zaragoza España., Pág. 73-78.

18. Fierro J. A., Negrete R., Altamirano M., Rivera L. y Medina J.C., 1999., "Efecto del tiempo en la producción de micotoxinas por una cepa de *Aspergillus flavus*"., Memorias de la XXIII congreso anual ANECA pág. 152 – 154.

19. Franco S. I., Rosiles M. R, 1995., "Micotoxigenicidad de hongos *Aspergillus Flavus* y *Fusarium moniliforme* aislados de alimento comercial para conejo"., Revista Veterinaria México. Vol. 26 No 1 pág. 76.

20. García A. G., 1989., "Manual de Métodos para el Análisis de Micotoxinas en Granos"., Editado. Por la Universidad Nacional Autónoma de México Pág. 9 – 55.

21. García T. M., 1995., "Conformación química y estudios epizootológico de Fumonisina B1 (FBI), en maíz de Oaxaca causante de leucoencefalomalacia equina"., Revista Veterinaria México Vol. 26 No 1 pág. 77.

22. Garnett E.W., 1993., "Micotoxinas"., Revista Porcicultura Mexicana Año V, N° 3 Pág. 26 – 35.
23. Guzmán D. D., 1989., "Micotoxinas en el bajío de Guanajuato"., Revista Avance y perspectiva N° 40 (8) 16-18.
24. Hall D.W., 1980., "Manipulación y almacenamiento de granos alimenticios en las zona tropicales y subtropicales"., FAO: producción y protección vegetal, FAO: cuaderno de fomento agropecuario., Pág. 118.
25. Harvey R. B, and Kubena L. F., 1990., "Efecto del tratamiento de cerdos en crecimiento con aflatoxinas y toxina T-2"., Revista Porcicultura Mexicana., No 27 pág. 16, 26, 27.
26. Hess B. J., 1994., "Las fusariotoxinas y el desempeño de las aves" Revista., Correo Avícola N° 7 Pág. 24 – 25.
27. Howarth B., Wyatt R. A., 1976., "Effect of dietary aflatoxin on fertility, hatchability and progeny performance of broiler breeder hens"., Apple Environ Microbiol. 31: 680-684.
28. I.C.M.S.F. (Internacional Commission on Microbiological Specification of Microbiology for Foods)., 1980., "Ecología Microbiana de los Alimentos"., 2° Productos Alimenticios Pág. 679-693.
29. Jelinek, C. F., Pohland A. E., and Wood G. E., 1989., "World Wide Occurrence of mycotoxins in foods and feed. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 72, Pág. 223 – 230.

30. Kim J.C., Kang H.J., Lee D.H., Lee Y.W. and Yoshizawa T. 1993., "Natural ocurre of *Fusarium* mycotoxins (trichothecenes and zearalenone) in barley and corn in Korea"., Appl. Environ Microbiology. 59(11):3798 – 3802.
31. Koneman E. W., Glenn D. R. 1987., "Micología práctica de laboratorio"., Ed. Medica Panamericana., Pág 103 – 110.
32. Lauren D.R., Sayer S.T. and Menna M. E., 1992., "Trichothecene production by *Fusarium* species isolated from grain and pasture throgught New Zealand". Environ Mycopathologia. 120: 167-176.
33. Liewen M. B., and Bullerman L. B., 1992., "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods"., Carl Vanderzant., American Public Association., Pág. 810-815.
34. Lindner E., 1985., "Toxicología de los Alimentos"., Editorial. Acribia Pág. 84-89.
35. López C. A., Chavira S. H., 1994., "Actividades de las clínicas ambulatorias IDPT – ILPH – UNAM durante Julio de 1993 a Julio de 1994"., Revista Veterinaria Mexicana Vol. 25 N°4 pág. 345 – 346.
36. Mabbett T., 1999., "La amenaza de las micotoxinas"., Feeding times., Vol. 4 N° 3 Pág. 5-8.
37. Martínez A. 1994., "Efectos de Zearalenona en cerdos"., Revista Porcicultura Mexicana año IV No 6 pág. 8-10.

38. Marquez M. R., Mococo T. 1930., "Ochratoxina en granos forrajeros y carne industrializada de cerdo"., Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, Jalisco pág. 116 – 118.
39. Mclachlan, A., Shaw K.J., Hocking A.D., Pitt J.I., and Nguyen T.H.L., 1992, "Production of trichothecene mycotoxins by Australian *Fusarium* species"., Food Addit. Contam. 9(6);631 – 637.
40. Medina B. J. C., Muñoz S. J., Castillo R. E. y Romero S. M., 1992., "Contaminación con Zearalenona, Deoxinivalenol y toxina T-2 en sorgo y alimentos terminados en México"., Memorias XXVII Congreso Nacional AMVEC. Pág. 165, 169.
41. Medina J. C., 2000., "Actualidades sobre micotoxinas"., Revista los Avicultores y su entorno año 3 No 14. pág. 30-33.
42. Miguel J. A. 1982., "Producción de aflatoxinas por dos cepas de *Aspergillus flavus* en 16 variedades de sorgo"., INIA/Ser. Ganadero/ N° 17 Pág. 62 – 66.
43. Miroch C.J., 1990., "Aflatoxinas: química, metabolismo y sus efectos en la salud animal"., Revista Avirama Año 8 Vol. XII N° 87 Pág. 52 – 55.
44. Montemayor A., 1993., "Micotoxinas, su importancia en salud humana y producción animal"., Revista Agricultura N° 20 Pág 20-21.
45. Montville T. J., 1997., "Micotoxigenic Molds" En; Food Microbiology., ed. Doyle M. P., ASM Press. Pág. 4-7.

46. Moreno M. E., 1989., "Curso de actualización sobre micotoxicosis aviar doméstica" ., Hongos y Micotoxinas en granos almacenados Editado. Por la Universidad Nacional Autónoma de México. Pág. 23-26.
47. Moreno M.E. 1988., "Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados"., Editado por la Universidad Nacional Autónoma de México Pág. 7 – 107.
48. Moreno M. E., 1995., "Los Hongos de Almacén y las Micotoxinas"., Memorias del Curso Internacional de Patología de Semillas., Universidad Nacional Autónoma de México., Pág. 23.
49. NOM SSA., Anteproyecto de norma mexicana 1997., "Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal"., Disposiciones sanitarias.
50. Oldham L.S., Oehme F. W. and Kelley D. C., 1971., "Producción of aflatoxin in pre – packaged luncheon meat and cheese at refrigerator temperatures"., Milk fod technol., Vol. 34 N° 7 Pág. 349 – 351.
51. O.P.S., 1979., "Criterios de Salud Ambiental II, Micotoxinas"., Organización Panamericana de la Salud Pública Científica N° 453 Pág. 19-24.
52. Osuna S. O., 1994 "Impacto de las micotoxinas en la producción porcina". Revista Desarrollo Porcicola No 21 pág. 19-21.
53. Pascual A. M. R., 1992., "Microbiología Alimentaria"., Editorial. Díaz de Santos S.A. Pág. 99 – 107.

54. Peraza C., 1990., "La aflatoxicosis en las aves domesticas"., Revista Avicultura Técnica 164: Pág.2 – 6.
55. Pérez M. A., 1989., "Técnicas para el muestreo y análisis microbiológicos de alimentos, muestreo y transporte de la muestra", Secretaria de Salubridad y Asistencia., Dirección General de Investigación en la Salud Pública., Pág. 11.
56. Pheips A. R., 1991., "Micotoxin contamination in Rumiant Raitons: A Review"., F.S. Vol. 63 N° 20 Pág. 11-12.
57. Pioja A. C. and Cervantes O.R., 1989., "Manual de Micología Veterinaria"., Editado por la Universidad Nacional Autónoma de México., Pag. 1-6.
58. Rodríguez B. G, 1995., "Control de aflatoxinas en explotaciones porcinas"., Revista Nuestro acontecer porcino Vol. III No 13 pág. 22-25.
59. Romero C.S., 1988., "Hongos Fitopatógenos" Editado por la Universidad Autónoma de Chapingo Pág. 347.
60. Romo A. P., 1992., "Resultados de investigación sobre ingredientes, micotoxinas, equipos y enfermedades"., Revista Tecnología Avipecuaria Año 5 N° 59 Pág. 41-42.
61. Rosiles M. R. 1989., "Estudio de aflatoxina en ensilado de maíz"., Revista Veterinaria México N° 9 Pág. 163-165.

62. Rosiles M. R. López R., 1997., "Síndrome estrogenico de origen alimenticio en cerdos"., Revista Veterinaria México 8: pág. 123, 126.
63. Sanchis V. I., Viñas M. E., 1982., "Micotoxin-Producing isolated from bin stored corn"., Mycopathologic N° 80 Pág. 89-93.
64. Sánchez A., 2000., "Aflatoxinas el enemigo invisible"., Revista los Avicultores y su entorno Año 3 N° 16 Pág. 46 – 53.
65. Santamaría F. I. Rosiles M. R., García C. R., 1995., "Micotoxigenicidad de hongos *Aspergillus flavus* y *Fusarium moniliforme* aislados de aislamiento comercial para conejos"., Revista Veterinaria México volumen 26 N° 1 Pág. 76.
66. SARH., 1988., "brote de relámpago por envenenamiento con maíz contaminado por hongos"., Boletín SARH., Comisión México – Americana para la Prevención de la Fiebre Aftosa. Dirección General de Sanidad y Protección Agropecuaria y Forestal., N° 27 Pag. 28 – 30.
67. Scott, P.M., Lombaert G.A., Pellaers P., Bacler S., Kanhere S.R., Sun W.F., Lau P.Y. and Wever D., 1989., "Application of capillary gas chromatography to a survey of wheat for five trichothecenes"., Food Addit Contam. 6 (4) 489 – 500.
68. Steel and Torrie., 1985., "Bioestadística"., Principios y procedimientos., Segunda. Edición. Mc. Graw Hill.
69. Stephano H. A., 1989., "Efecto de las micotoxinas en cerdos"., Revista Síntesis Porcina Vol. 8 No 7.

70. Stephano H. A., 1989., "Interacción de micotoxinas en cerdos II"., Revista Síntesis Porcina Vol. 8 No 8 pág. 12-15.
71. Strongman, D.B., Strunz G.M., and Mei Yu C.,1990., "Trichothecene mycotoxins produced by *Fusarium sporotrichoides* DAOM 197255 and their effects on spruce budworm"., *Choristoneura fumiferana* J. Chem. Ecol. 16(5):1605 – 1609.
72. Strongman., D.B., Konemann E. W. Glenn D.R., 1987., "Micología práctica de laboratorio"., Editorial. Panamericana., Pág. 77-79, 80,104.
73. Valle P., 1991., "Toxicología de alimentos"., Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud., Programa de Salud Ambiental., Organización Panamericana de la Salud., Pág. 1-20.
74. Van Diuk H.J., O'dell G. D., 1984., "Effects of aflatoxin M₁ intake at Physiologic level on newborn dairy calves" Am. Vet. Res. Vol. 45 N°10.
75. Vanderzant C., Splittstoesser D. F., 1992., "Compendium of methods for the microbiological examination of foords"., American public Health asociación., chapter 4.
76. Voigt – Michael N. J., Derrell., Ayres., 1981., "Concentraciones anormales de vitaminas "B" en bilis de conejo con aflatoxinas"., *Applied and Enviromental Microbiology* Vol. 41 No 4. pág. 12.
77. William B. B. and Gary D. O., 1981., "Toxicología Veterinaria Clínica y Diagnostico" Editorial. Acribia Pág. 320-323.

78. Williams S., 1984 "Official methods of analysis of the association of official analytical chemist"., Chapter No 26.

79. Wyatt R. D., 1986., "Disminución de la incubación en reproductoras pesadas causadas por aflatoxinas" Revista Avicultura Profesional 4 (2) : 50.

80. Wyatt R..D. 1990., "Importancia de los hongos en la salud animal"., Revista Avicultura Profesional., Vol. 8 N° 2 ., Pag. 48-50.

CUCBA



BR. AMÉRICA CENTRAL