# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISION DE CIENCIAS VETERINARIAS

"CONTAMINACION POR Fusarium moniliforme Y FUMONISINAS EN EL MAIZ DE LAS VARIEDADES UDG-600, UDG-601 Y UDG-602"

## TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PRESENTA:
P.M.V.Z. ARLETTE VERONICA ALCARAZ GONZALEZ

DIRECTOR DE TESIS
M.C. WALDINA PATRICIA REYES VELAZQUEZ

ASESOR DE TESIS
M.C. RICARDO NUÑO ROMERO

Las Agujas Nextipac, Zapopan, Jal., noviembre de 1998

## A MI HIJO

Eric A ti mi niño, por representar uno de los milagros más grande que Dios me ha concedido, por esto y por la felicidad que me otorgas al estar aquí. Gracias.

Que Dios te bendiga siempre.

## A MI MADRE

Primeramente por darme la vida y por todos aquellos momentos de desvelos y sin sabores que por mi causa has padecido. Este es el reflejo de todos tus sacrificios y esfuerzos.

Gracias por otorgarme la mayor de las herencias "La Preparación Profesional"

"Gracias Mamá".

## A MI ESPOSO

Alejandro, a ti muy especialmente te agradezco todo lo que has hecho para que los sueños más grandes de mi vida se cumplan.

Por estar, en los momentos de titubeo y apoyarme siempre en todo lo que realizo.

Gracias y que Dios nos permita continuar juntos por siempre.

## DIRECTOR DE TESIS

Gracias Waldina por tu apoyo brindado de forma incondicional durante el largo proceso de la elaboración de nuestro trabajo.

## ASESOR DE TESIS

Gracias Ricardo por su valiosa ayuda y apoyo desinteresado a este trabajo.

# CONTENIDO


| | Página |
|---|---|
| RESUMEN | x |
| INTRODUCCION | 1 |
| PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 12 |
| JUSTIFICACION | 13 |
| HIPOTESIS | 14 |
| OBJETIVOS | 15 |
| MATERIAL Y METODO | 16 |
| RESULTADOS | 19 |
| DISCUSION | 28 |
| CONCLUSIONES | 31 |
| BIBLIOGRAFIA | 32 |
| ANEXOS | 37 |

## RESUMEN

El cultivo del maíz frecuentemente se ve afectado por contaminaciones de hongos fitopatógenos, entre los que se encuentra *Fusarium moniliforme*, productor de las fumonisinas, responsables de la leucoencefalomalacia equina y del edema pulmonar porcino. En regiones de Sudafrica, China y la India existe estrecha correlación entre los niveles de fumonisinas y la alta incidencia de cáncer esofágico humano. Entre las medidas de prevención y control para la reducción de la contaminación por hongos productores de micotoxinas se encuentran la selección de híbridos y variedades de maíz con mayor resistencia a su presentación, por lo que en el presente estudio se planteo el objetivo de determinar la influencia de las condiciones ambientales sobre la resistencia de tres variedades de maíz (UDG 600, 601 y 602) a la presentación de *F. moniliforme* y fumonisinas. El estudio se desarrolló bajo un diseño completamente al azar en el cual se obtuvieron 30 mazorcas de cada variedad en parcelas localizadas en la zona agrícola de Ameca, Jalisco. Las mazorcas se clasificaron de acuerdo al daño visual y mediante cultivos selectivos se aisló el hongo, determinando el desarrollo de Unidades Formadoras de Colonias por gramo de muestra (UFC/g) y los niveles de fumonisinas a fin de analizar la existencia de correlación estadística entre variables. Los resultados mostraron alto porcentaje de mazorcas aparentemente sanas en general en las tres variedades de maíz, con elevada incidencia de *F. moniliforme* (90-100%), encontrándose correlación estadística positiva entre daño visual de las mazorcas y el desarrollo de UFC/g, así como con los niveles de fumonisinas cuando el daño visual fue mayor a 25%. Se detectaron fumonisinas en el total de las muestras, encontrándose los niveles promedio entre 6.12 y 6.78 ppm. Por los hallazgos en el presente estudio se puede concluir que existe alta contaminación por *F. moniliforme* en el maíz de las variedades UDG 600, 601 y 602 cultivado en Ameca, Jalisco, en donde las condiciones que se presentaron en el período de Mayo a Diciembre de 1997 favorecieron al crecimiento del hongo y a la producción de fumonisinas, cuyos niveles se consideran de alto riesgo tóxico para humanos y animales.

# INTRODUCCION

El cultivo de maíz en México cubre el 51 % del área agrícola, ocupando Jalisco el primer lugar de producción nacional con 2'052 728 toneladas lo que representa 15.8 % del total. Respecto a la utilización del maíz, el 59.5 % se consume en tortillas, 4.7 % es procesado por la industria almidonera y 35.8 % se destina a otros usos (semillas, alimento animal y consumo por parte del agricultor). [16]

El maíz es el alimento de mayor importancia, su consumo per cápita se calcula en 300 g/día, que aportan el 56 % de las calorías y el 47 % de las proteínas de la alimentación. En las áreas rurales estos porcentajes son 70 % y 56 %, respectivamente. [19]

El almacenamiento de granos en países con climas tropicales y subtropicales ocasiona con frecuencia pérdida de peso, transformaciones químicas y contaminación con toxinas, microorganismos, fragmentos de insectos, orina y excretas de roedores, estimando la Organización del Departamento de Agricultura y Alimentos (FAO), una pérdida entre 5 y 10 % en los granos alimenticios cosechados, en América latina las pérdidas varían de 25 a 50 %. [22]

En el cultivo de maíz la contaminación por hongos requiere de altos contenidos de humedad (20 a 21 %), los cuales invaden y atacan a los granos antes de la cosecha afectando su apariencia y calidad (roña, manchas, decoloración). Los géneros de hongos considerados de campo que se presentan frecuentemente en el maíz son *Alternaria*, *Cladosporium*, *Helminthosporium* y *Fusarium*, siendo este último considerado tanto de campo como de almacenamiento. [16]

Dentro de las especies de *Fusarium* de mayor interés en las investigaciones actuales se encuentra *F. moniliforme,* que pertenece a la Sección Liseola y es considerado un hongo de distribución mundial. Se presenta no solo en zonas de clima templado húmedo y subhúmedo, sino también en zonas tropicales y subtropicales. El estado perfecto del hongo (de reproducción sexual) es *Gibberella fujikuroi*, del cual hasta el momento se han descrito 6 poblaciones designadas con las letras A a la F, miembros de las poblaciones A y F pertenecen a *Fusarium moniliforme,* las poblaciones B y E a *F.subglutinans* y la población D a *F. proliferatum*. En Estados Unidos se

han aislado las poblaciones de apareamiento A, E y D, esto coincide con lo encontrado en maíz cosechado en Argentina. En Italia identificaron las poblaciones de apareamiento A, D, y E entre las especies de *Fusarium* de la Sección Liseola aisladas de maíz. En México sólo se ha encontrado en maíz la población de apareamiento A, la cual está integrada por cepas que producen grandes cantidades de fumonisinas. A excepción de los datos obtenidos a partir de especies de *Fusarium* de la Sección Liseola aisladas de maíz cosechado en Argentina, no existen datos sobre las poblaciones y tipo de apareamiento de cepas aisladas de maíz cosechado en otros países de Sudamérica. [4,13,16,25]

Estudios previos han demostrado que *F. moniliforme, F. proliferatum y F. subglutinans* son las especies de *Fusarium* aisladas con mayor frecuencia a partir de maíz destinado al consumo humano en Ecuador, detectándose contaminación natural con fumonisinas. [26]

*F. moniliforme* puede existir en el maíz en forma endofítica y permanecer en la planta asintomáticamente, expresión relacionada con la naturaleza genética del hongo, cultivo del maíz y condiciones ambientales. El hongo puede localizarse por debajo del tejido vascular de cada germen, desde su punta hasta donde se implanta en la mazorca, pudiendo existir escasas hifas en gérmenes sanos, sin embargo bajo condiciones inadecuadas de almacenamiento puede iniciarse una invasión mayor. También puede encontrarse en residuos de la planta del maíz especialmente tallo y mazorca, donde puede sobrevivir en el suelo. [25]

Estudios de laboratorio indican que *F. moniliforme* puede permanecer en la semilla del maíz viable hasta por 8 años, debido a su localización sistémica lo que provee condiciones favorables para mantener su virulencia y viabilidad por años. Produce dos clases de esporas, las macroconideas, de sobrevivencia mayor, que actúan acarreando al hongo durante las estaciones, mientras que las microconideas, transportadas por el viento, funcionan como propágulos de infeccción secundaria, infectando la planta durante la estación de crecimiento. No produce clamidosporas como estructuras de sobrevivencia, pero puede sobrevivir en el suelo como hifas dentro de fragmentos de tallos enterrados a 30 cm, con humedad de 5 a 35 % , y temperatura de 5 a 10 ° C durante 12 meses. [30]

Los principales aspectos de la enfermedad del maíz por este hongo son podredumbre de la mazorca, tallo y raíz, pudiendo variar el grado de infección

de acuerdo a la vía de entrada del hongo, lo cual puede ser a través de los estilos de la mazorca o por esporas precedentes del viento, resultando una infección temprana de los granos, otra posible vía de entrada a través de orificios causados por gusanos o insectos en el pericarpio del grano. Además de la infección local, la planta de maíz puede llegar a ser infectada sistémicamente a partir de las semillas contaminadas, por lo que la infección se presenta durante o inmediatamente después de la germinación de la semilla, entrando el hongo en la región de la placa cotiledonaria cuando el tallo brota (germinación), o cuando la plúmula emerge del coléoptilo el hongo crece en el parénquima del tallo y es durante la floración cuando el micelio del hongo ramifica a toda la planta. Se ha encontrado también infección en las raíces primarias. [25,26,30]

En las infecciones asociadas con toxicidad en animales, el hongo se encuentra como una masa abundante de hifas esporuladas, las cuales colonizan internamente el germen incluyendo al embrión. En condiciones inapropiadas de almacenamiento el hongo contamina a las semillas a partir del embrión en un periodo de dos semanas, ocurriendo su muerte en un total de 3 semanas, sin que se observen signos de infección. Las infecciones de la mazorca y el grano pueden ocurrir a su vez por la infección sistémica de la planta o bien por una combinación de infección local y sistémica. [2,20]

**PRODUCCION DE MICOTOXINAS**

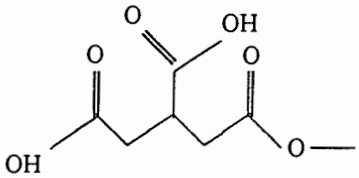
La micotoxinas son metabólitos producidos por diferentes hongos que afectan a humanos y animales, sus trastornos se denominan micotoxicosis, para que se presenten se requiere la interacción de factores múltiples en el complejo causal. Algunas especies de *Fusarium* producen metabólitos secundarios en plantas y animales, los cuales pueden ser pigmentos, antibióticos, fitotoxinas y/o micotoxinas. [26]

Algunos de los factores que intervienen cuando se presenta toxicidad causada por hongos fitopatógenos son: (a) infección de una planta susceptible por un hongo productor de micotoxinas; (b) factores ambientales favorables para que se produzca la enfermedad, (c) capacidad genética del patógeno de producir metabólitos tóxicos para humanos o animales; y (d) acumulación de cantidades suficientes de metabólitos tóxicos en la planta enferma. [30]

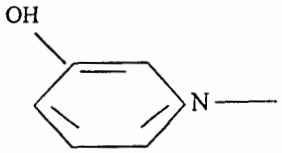
De las micotoxinas producidas por *F. moniliforme*, sobresalen la moniliformina, potencialmente tóxica y de alta mortalidad; fusarin C y ácido fusárico ambas potencialmente mutagénicas (fusarinas); ácido giberélico, regulador del crecimiento de la planta; y las fumonisinas. [27]

Las fumonisinas fueron caracterizadas en 1988 como diésteres de ácido tricarboxílico y amino-alcoholes de 22 carbones (peso molecular de 721). De las 13 fumonisinas caracterizadas químicamente (Figura 1 y Tabla 1),[22,25] las FB1, FB2 y FB3 son consideradas de mayor interés por su actividad promotora de cáncer.

Figura 1. **ESTRUCTURA QUIMICA DE LAS FUMONISINAS**




Acido Tricarboxílico (TCA)




3-Hidroxipiridina (3HP)

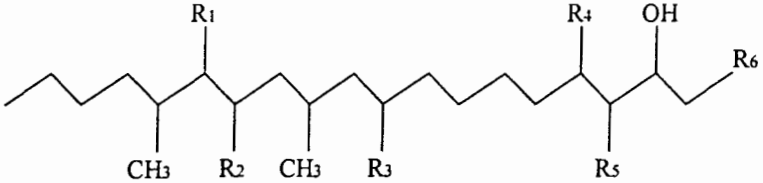



Tabla 1. **Tipos de Fumonisinas**

| | $R_1$ | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | P.M |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **$FA_1$** | TCA | TCA | OH | OH | $NHCOCH_3$ | $CH_3$ | 763 |
| **$FA_2$** | TCA | TCA | H | OH | $NHCOCH_3$ | $CH_3$ | 747 |
| **$FA_3$** | TCA | TCA | OH | H | $NHCOCH_3$ | $CH_3$ | 747 |
| **$FAK_1$** | =O | TCA | OH | OH | $NHCOCH_3$ | $CH_3$ | 603 |
| **$FB_1$** | TCA | TCA | OH | OH | $NH_2$ | $CH_3$ | 721 |
| **$FB_2$** | TCA | TCA | H | OH | $NH_2$ | $CH_3$ | 705 |
| **$FB_3$** | TCA | TCA | OH | H | $NH_2$ | $CH_3$ | 705 |
| **$FC_1$** | TCA | TCA | OH | OH | $NH_2$ | H | 707 |
| **$FP_1$** | TCA | TCA | OH | OH | 3HP | $CH_3$ | 800 |
| **$FP_2$** | TCA | TCA | H | OH | 3HP | $CH_3$ | 784 |
| **$FP_3$** | TCA | TCA | OH | H | 3HP | $CH_3$ | 784 |
| **$PH_{1a}$** | TCA | OH | OH | OH | $NH_2$ | $CH_3$ | 563 |
| **$PH_{1B}$** | OH | TCA | OH | OH | $NH_2$ | $CH_3$ | 653 |

## MECANISMO DE ACCION DE LAS FUMONISINAS

El mecanismo de acción de las fumonisinas no es claro sin embargo, estudios recientes indican que existe interferencia con la biosíntesis de esfingolípidos al inhibir la enzima esfingonina N-aciltransferasa causando acumulación de esfingosina y esfingonina a nivel intracelular. Probablemente la inhibición de la enzima se debe a la estructura similar de la esfingonina y fumonisina. [36]

A pesar que la $FB_1$ no es genotóxica, se considera como un agente carcinogénico completo en ratas. Los estudios revelan que las fumonisinas inhiben la proliferación de hepatocitos en el hígado de ratas, por lo que se ha hipotetizado que la hepatotoxicidad y los efectos de proliferación en los hepatocitos son determinantes críticos para la iniciación y promoción de cáncer. [11]

## CONTAMINACION POR *F. moniliforme* EN EL MAIZ

Existen reportes del nivel de contaminación en diversos países, en los cuales resulta ser la especie de mayor frecuencia en el maíz amarillo y blanco, influyendo las condiciones ambientales del año de cosecha y la localización geográfica. En Estados Unidos en los años de cosecha de 1991 y 1992 se reportó un rango de infección del 28 al 94 % por especies de *Fusarium*, existiendo en 1991 mayor contaminación por *F. moniliforme* en el maíz amarillo, especialmente en el maíz molido, en tanto que durante la cosecha de 1992 se encontró principalmente *F. subglutinans* en maíz blanco, lo cual pudo ser debido a las condiciones húmedas y frías que prevalecieron durante el año, lo que favoreció la invasión de otras especies de *Fusarium*. [4,6] En un estudio realizado en España se aisló hasta en un 85.7 %. [33]

En investigaciones desarrolladas en Argentina se evaluó la contaminación por especies de *Fusarium* en diferentes estados de madurez del maíz, encontrándose *F. moniliforme* como la especie de mayor prevalencia durante las etapas finales de madurez, mientras que *F. proliferatum* se encontró en altos niveles en los estados de madurez intermedios, lo que concuerda con lo reportado en otros estudios. [14,40]

En México no ha sido estudiado ampliamente, sin embargo, reciente investigación al noreste de la república permitió el aislamiento de F. *moniliforme* en 61% de las mazorcas analizadas, presentando el 97% de las cepas capacidad productiva de fumonisinas, los niveles promedio fueron de 1,000 ppm (rango de 10 a 9,000 ppm). [12]

Los estudios realizados en el maíz blanco de Huejotitán, municipio de Jocotepec, Jalisco, reportaron 80% de contaminación por *F. moniliforme,* encontrándose 93.7% de las cepas con alto potencial productivo de fumonisinas, en un rango de 775 a 2280 ppm. [7,29]

En otras investigaciones relacionadas con la incidencia y contaminación de fumonisinas en diferentes genotipos de maíz cultivados en Europa y Africa, se determinó alta contaminación en Italia, Portugal, Zambia y Benin, con incidencia del 100% en los tres primeros y 82% en el último, encontrándose niveles de fumonisinas (FB1+FB2) de 2,850, 4,450, 1,710 y 3,310 ppb respectivamente. Se observó una tendencia general de alta contaminación en genotipos de maíz de madurez tardía (FAO) o de endospermo tipo dentado, aunque también las condiciones ambientales del área especifica de cultivo juegan un papel importante en la formación de fumonisinas en el maíz, se requieren estudios que valoren la interacción genotipo-área-estación. [14]

**EFECTOS BIOLOGICOS**

La $FB_1$ ha demostrado ser responsable de la mayoría de las afecciones toxicológicas, entre éstas el edema pulmonar porcino, hepatotoxicidad en diversas especies, cáncer en hígado y la leucoencefalomalacia equina, sindrome que se ha caracterizado por la presencia de necrosis licuefactiva en la materia blanca del cerebro. Algunos investigadores sugieren que altas dosis de fumonisina inducen hepatotoxidad aguda con lesiones leves en el cerebro, mientras que dosis menores causan lesiones severas en el cerebro y hepatotoxicidad leve. [10,20,32,39]

Se han establecido niveles de tolerancia o permisibles para fumonisinas, recomendándose no incorporar en el alimento niveles de 5, 10, 50 y 50 ppm para equinos, cerdos, aves y bovinos respectivamente. [30]

Investigaciones realizadas en México reportan principalmente estudios anatomopatológicos de los brotes que se han presentado en los estados de México y Oaxaca, encontrándose lesiones en SNC similares a los reportado previamente [14,32], el cuadro clínico observado en caballos se caracterizó por anorexia, adipsia, ceguera, parálisis glosofaringea, incoordinación marcada, postración y muerte entre 24 a 48 hrs [32]. Las concentraciones de fumonisinas que se encontraron en los análisis realizados en Oaxaca fueron de 1-10 µg de FB1/g de muestra, considerándose los niveles presentes responsables de la muerte de los animales. [15]

CENTRAL



La contaminación por fumonisinas y *F. moniliforme* en maíz aparentemente sano y visiblemente mohoso de áreas de Transkei, Sudáfrica se ha relacionado con la alta proporción de cáncer esofágico en humanos. El cáncer esofágico también se presenta con frecuencia en algunas regiones de China, Irán y Charleston, Carolina del Sur de Estados Unidos. El maíz que se consume como alimento básico en algunas de estas regiones es frecuentemente contaminado con altos niveles de hongos, especialmente *F. moniliforme*, aunque otros factores como el tabaquismo, consumo de alcohol y componentes de la dieta y ambientales pueden estar involucrados en la etiología de la enfermedad, sin embargo estudios recientes apoyan la hipótesis que las fumonisinas pudieran ser responsables parcialmente.[6,11,39]

La tabla 2 muestra los niveles de fumonisinas asociados con los brotes de las enfermedades de animales y en productos de maíz.

**Tabla 2**

| Enfermedad/Producto | Niveles de Fumonisinas µg/g |
|---|---|
| ELEM | < 1 – 126 |
| PPE | < 1 – 330 |
| Maíz dañado | 553 |
| Mazorca | 138 |
| Tallo | 54 |
| Maíz molido | 125 |
| Maíz entero sin daño | 1 – 4 |

Fuente : Bullerman Ll.B. 1994.

## PREVENCION Y CORRECCION DE LA CONTAMINACION DE MAIZ POR MICROORGANISMOS Y MICOTOXINAS

En Estados Unidos, el organismo que regula la administración de alimentos y medicamentos ha establecido niveles de tolerancia sólo para Aflatoxinas (20 ppb), los cuales han sido adoptados por México, sin embargo los experimentos diseñados y los análisis estadísticos han demostrado imposibilidad práctica y teórica de determinar en el laboratorio una dosis máxima permisible de aflatoxinas en alimentos para consumo animal, debido a la capacidad de estas micotoxinas de interactuar con diversos factores no reproducibles en el laboratorio.[28]

**Degradación física y química:**

La opción de eliminar las micotoxinas convirtiéndolas en compuestos menos tóxicos o no tóxicos ha sido estudiada sin obtener hasta el momento métodos útiles y económicamente viables por lo que es imperativo continuar con la investigación de nuevos y mejores métodos para la inactivación de dichas toxinas. La irradiación, ha obtenido resultados pobres, mientras que el calor (tostado) ayuda a detoxificar oleaginosas hasta en un 70% como máximo. [5]

Acidos y bases: los ácidos degradan a las aflatoxinas a compuestos menos tóxicos, mientras que las bases orgánicas (sosa) combinadas con altas temperaturas son útiles para destruir aflatoxinas en aceites comestibles, el hidróxido de calcio (usado para la nixtamalización) acompañado de un formaldehído ha dado buenos resultados en el tratamiento de harina de cacahuate.

El proceso de nixtamalización utilizado en México no es del todo satisfactorio, pero reduce de 62.7 a 74% la contaminación por aflatoxinas. El efecto de la nixtamalización sobre las fumonisinas ha demostrado la producción de hidrolizados, los cuales no pueden ser detectados por la metodología analítica usual, lo que enmascara el nivel real de toxicidad del producto, ya que se ha encontrado similitud en síntomas y lesiones en animales de laboratorio respecto a los hidrolizados de fumonisinas y la toxina original. [17]

El hidróxido de amonio y el amoniaco se han utilizado con pocos resultados. El tratamiento con ozono en harina de semilla de algodón y cacahuate elimina la aflatoxina B1 pero decrece la relación de eficiencia proteica (REP). [22]

Existe en el mercado un producto que adsorbe principalmente aflatoxinas, las cuales se unen a un componente natural de silicato modificado en un proceso fisico-químico donde el silicato es combinado con un emulsor biológico y un mineral catalítico. Dicho producto contiene enzimas específicas para los tricotecenos como: toxina T-2, toxina HT-2, deoxinavenol y diacetoxiscirpenol. Actúa sobre la zearalenona de manera enzimática rompiendo el anillo de lactona, cambiando las aptitudes estrogénicas de la micotoxina a un metabólito no tóxico. En 1992 un estudio de lechones en Budapest, mostraron reducción en la acumulación de zearalenona en el hígado y ausencia de vulvas inflamadas. [31]

**Control Biológico:**

El biocontrol ofrece tres aspectos: el uso de un agente que destruya al productor de micotoxina, tal como un predador o un parásito, el uso de un agente que compita por el nicho ecológico, o un agente que secrete una "sustancia" que destruya al hongo toxigénico y/o sus metabólitos. Se han utilizado levaduras, mohos, bacterias, actinomicetos, algas y esporas fungales en la desactivación de algunas micotoxinas como las aflatoxinas. *Flavobacterium aurantiacum* NRRL B-184 eliminó de manera irreversible a la aflatoxina B1, detoxificando la leche, mantequilla de cacahuate y maíz. Ciertos hongos y bacterias son capaces de metabolizar algunas sustancias tóxicas como: *Penicillum raistrikii, Tricoderma viride, Mucor ambiguus* y *Flavobacterium auranticum.* [30]

El comportamiento de las contaminaciones por *F. moniliforme* es variable debido a que existe heterocigosidad dentro de los cultivares de maíz además de una variación genética dentro de la especie del hongo y diferencia en las condiciones ambientales. La habilidad de las especies de *Fusarium* para colonizar al maíz y producir micotoxinas sugiere que estas especies son altamente competitivas. [2]

El biocontrol con especies de bacterias como productoras de sustancias con actividad fungicida sobre especies de *Fusarium* incluyen los géneros *Pseudomonas* y bacilos. Recientes investigaciones realizadas en Argentina mostraron que la cepa de *Bacillus subtilis* inhibe el crecimiento de *Fusarium moniliforme* en el medio de cultivo ensayado. Respecto a la producción de Fumonisina $B_1$, se redujo 80% y 60% en los niveles de toxina a los 21 y 28 días de inoculación respectivamente. [9]

**Manejo Agronómico del cultivo:**

El manejo del cultivo antes y después de la cosecha influye en gran medida en los niveles de contaminación por micotoxinas, sin embargo la carencia de datos en México sobre factores climáticos y de manejo agrícola limita el progreso en esta área. [31]

El manejo de cultivo debe ser evaluado y validado para cada región agroclimática, si bien se han desarrollado paquetes tecnológicos por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP)

para el control de aflatoxinas como lo fue en el estado de Tamaulipas durante 1991-1993, aun continúa latente el problema por lo que las investigaciones deben proseguir para obtener mejores herramientas de control. Aunque no existen hasta el momento variedades de maíz tolerantes a aflatoxinas, la siembra de genotipos adaptados a la región y de alto rendimiento ha demostrado ser un factor importante para reducir los niveles de contaminación. [28]

El balance adecuado en la fertilización se realiza con el fin de evitar el estrés de las plantas. La sequía ha sido asociada con el bajo aprovechamiento de nitrógeno por la planta, lo que incrementa el estrés fisiológico y en consecuencia la susceptibilidad a los hongos productores de micotoxinas. La competencia interespecífica en altas densidades de población, por humedad, nutrientes y luz, así como competencia del cultivo con la maleza pueden ser factores predisponentes. . [5,30]

Se ha observado que el efecto de la época de siembra sobre la presencia de aflatoxinas está asociada con el ciclo del patógeno, la variedad y sobre todo las condiciones ambientales prevalecientes, por lo que sería óptimo establecer el período de siembra que permita el desarrollo adecuado del cultivo y evite que la etapa de floración y llenado de grano coincida con sequías y altas temperaturas. [31]

En cuanto a la presencia de plagas se ha demostrado que los insectos aumentan significativamente los problemas de contaminación por micotoxinas al transportar las esporas del hongo, así como al dañar los granos los cuales quedan expuestos a la infección. Un estudio realizado durante tres años al sureste de Estados Unidos, se encontró que las especies que favorecen la presencia de aflatoxinas fueron el gusano elotero *Heliothis zea*, el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*, el barrenador europeo *Ostrinia nubilalis* y el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais*, siendo esta última especie responsable de las contaminaciones mayores. La aplicación de insecticidas, el trampeo con atrayentes y prácticas culturales pendientes al saneamiento del cultivo permiten el control de plagas, llegando a evitar hasta en un 70% la presencia de algunas micotoxinas como las aflatoxinas. [21]

En relación con la cosecha, se recomienda utilizar maquinaria que evite el quebrado del grano y la presencia de residuos del cultivo que contribuyan a la producción de toxinas. Se recomienda secar rápidamente el grano para evitar problemas en el almacén. Es importante la entrega rápida de grano cosechado ya que la contaminación durante el transporte se incrementa hasta un 6% cada día. En los productos almacenados se recomienda bajar el contenido de humedad a niveles inferiores a los requeridos por el hongo (22%

para *F. moniliforme*). Existen evidencias que señalan que altas concentraciones de bióxido de carbono o bajas concentraciones de oxígeno inhiben la síntesis de algunas micotoxinas. [5]

El uso de fungicidas se ha inclinado prácticamente al tratamiento con ácido propiónico y mezclas de otros ácidos orgánicos o sus sales, sin embargo estas sustancias le imparten un sabor y olor desagradable al grano por lo que no se usa para alimentación humana. El uso del fungicida tiabendazole, es una alternativa promisoria ya que no es tóxica para el hombre y animales. [22]

**Investigaciones en Biología molecular:**

La comprensión de los factores y genes que regulan la biosíntesis de micotoxinas es sin duda un paso importante para intentar la interrupción de la ruta metabólica como un posible mecanismo molecular de control. Actualmente se cuenta con información suficiente para diseñar estrategias que inhiban segmentos críticos de la ruta biosintética en el hongo y que en un futuro próximo podrían implementarse en el vegetal mismo.[4]

Las soluciones para minimizar las pérdidas ocasionadas por la contaminación de hongos deben incluir un manejo total y multidisciplinario desde la selección de la semilla hasta el consumo del maíz. Los fitomejoradores deben mejorar la generación de nuevos híbridos y variedades mediante la inclusión de genes más resistentes a las condiciones adversas que predisponen a las plantas al ataque de hongos toxigénicos . Se ha determinado que ciertas características de la variedad como la cobertura de la mazorca, grosor del pericarpio y la tolerancia a plagas son importantes en la reducción del riesgo de contaminación. [5,22,30,31]

Con el presente estudio se evaluarán tres variedades de maíz adaptadas a las condiciones de suelo y cultivo de la región agrícola de Jalisco, híbridos de alto rendimiento y de tolerancia a enfermedades foliares, restando por evaluar su resistencia a otras afecciones del maíz como las asociadas al género *Fusarium.*

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

*Fusarium moniliforme* es un hongo de distribución universal principalmente en cereales y como fitopatógeno es una de las principales causas de la pudrición de la mazorca y la germinación prematura del maíz. Se caracteriza por la producción de micotoxinas en granos y sus productos, entre las que se encuentran la moniliformina, fusarin C, ácido fusárico y fumonisinas

Investigaciones recientes al noreste de la república mexicana lograron aislar *F. moniliforme* en el 61% de las muestras de maíz, demostrando capacidad productiva de fumonisinas el 97% de las cepas, en un rango de 10 a 9,000ppm, lo que hace suponer un alto índice de contaminación en el maíz de la zona norte del país. Otro estudio desarrollado en el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara (Depto de Salud Pública) reportó alto porcentaje de presentación del hongo (80%) en el maíz blanco cosechado en Huejotitan, municipio de Jocotepec, Jalisco, con cepas de *F. moniliforme* de alto potencial productivo de fumonisinas ( 750 a 2,280 ppm).

El maíz representa un alimento básico para la población mexicana por lo que es necesario realizar estudios que proporcionen mayores datos respecto a la contaminación por hongos existente en el maíz que se cosecha en zonas de alta producción agrícola como Jalisco.

# JUSTIFICACION

Actualmente se pretende resolver el problema de contaminación por hongos en campo mediante la utilización de genotipos de maíz de mayor resistencia, lo cual aunado a las condiciones ambientales y área geográfica de la zona se pueda reducir la incidencia de *F. moniliforme* y la presencia de fumonisinas, las cuales representan riesgo tóxico a la salud humana y animal.

El presente estudio pretende valorar el nivel de contaminación en el maíz cosechado en Ameca, municipio del estado de Jalisco, correlacionando la incidencia del hongo y los niveles de fumonisinas con los genotipos de las variedades de maíz UdG 600, 601 y 602, así como con las condiciones agroclimáticas del área geográfica estudiada.

El centro de investigaciones en Fitomejoramiento y de Producción de Semillas, adscrito al Departamento de Producción Agrícola (División de Ciencias Agrícolas, C.U.C.B.A. de la U. De G.) ha generado tecnología que permite ofrecer semillas de nuevas variedades e híbridos de maíz y sorgo adaptadas a las condiciones de suelos y clima de la región. Dentro de las variedades de maíz desarrolladas se encuentran UdG-600, UdG-601 y UdG-602, las cuales presentan alto rendimiento y tolerancia a enfermedades foliares y al carbón de la espiga. Las características de las variedades (Anexo 1), les confieren gran aceptación en el mercado, sin embargo deben ser evaluadas más ampliamente, respecto a la resistencia de especies de hongos como *Fusarium*, debido a su alta incidencia en el campo.

# HIPOTESIS

La contaminación por *Fusarium moniliforme* y consecuentemente la producción de fumonisinas, puede presentarse en diferente intensidad en los híbridos de maíz UDG-600, UDG-601 y UDG-602 debido a la variabilidad genotípica entre cultivares.

# OBJETIVOS

## Objetivo General:

Determinar el grado de contaminación por *F. moniliforme* y los niveles de fumonisinas presentes en el maíz de las variedades, UdG 600, UdG 601 y UdG 602 cosechadas en Ameca, municipio del estado de Jalisco.

## Objetivos Particulares

1.- Valorar la resistencia de las variedades de maíz estudiadas (UdG 600, 601 y 602), con relación a la presentación de *F. moniliforme* y la producción de fumonisinas.

2.- Determinar el efecto de las condiciones ambientales que prevalecen en la zona de Ameca sobre la presencia del hongo y las fumonisinas durante la época de cultivo de Mayo – Diciembre de 1997.

3.- Correlacionar la incidencia de *F. moniliforme* en el maíz con el daño visual de la mazorca y el desarrollo de las unidades formadoras de colonias (UFC).

4.- Evaluar los niveles de contaminación de fumonisinas y los posibles riesgos a la salud humana y animal.

# MATERIAL Y METODO

El presente estudio se realizó en el área de Micotoxicología, del Depto. de Salud Pública, División de Ciencias Veterinarias del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara.

## Obtención de muestras.

Se realizó un muestreo aleatorio en una parcela localizada en el municipio de Ameca, Jalisco, que se encuentra a una latitud 20°33'N, longitud 104°03'W y altitud de 1225 m.s.n.m., donde se obtuvieron 30 mazorcas de las variedades de maíz UdG 600, UdG 601 y UdG 602 (n= 90), una vez que alcanzaron la madurez de cosecha y se trasladaron en bolsas de papel estraza para evitar contaminación cruzada, posteriormente en el laboratorio se desecaron mediante exposición directa al sol hasta alcanzar un porcentaje de humedad promedio del 10% para evitar el desarrollo de los hongos durante el almacenamiento previo al análisis.

Para el análisis de las muestras, las mazorcas de cada variedad se categorizaron de acuerdo a la clasificación del daño visual descrita por Dolezal en 1994. Escala establecida de la siguiente manera:

0-2% de daño.
2-10% de grano dañado
10-25% de grano dañado
25-50% de grano dañado
50-100% de grano dañado ( Anexo 2).

Se realizaron las siguientes determinaciones de rendimiento y calidad:

a) Diámetro y Longitud de la mazorca ,
b) Peso de granos por mazorca,
c) Análisis bromatológico de las semillas de maíz antes de la siembra y del maíz cosechado en sus diferentes variedades mediante el Análisis Químico Proximal propuesto por la A.O.A.C.,
d) Aislamiento e identificación de *F. moniliforme* según la técnica descrita por Nelson y col. en 1983 [24]
e) Determinación de los niveles de fumonisinas mediante detección Fluorométrica.
f) Análisis de las condiciones ambientales de Ameca (humedad y temperatura).

Para la medición del grosor y longitud de las mazorcas se utilizó un Vernier y para el peso de los granos una balanza granataria (Marca OHAUS) de 2,600g de capacidad. El análisis bromatológico de las tres variedades de maíz se realizó tomando una muestra compuesta de las mazorcas y se utilizaron las Técnicas Oficiales para el análisis de alimentos.

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE *F. moniliforme***

Se pulverizó 1 g de cada muestra a fin de realizar el aislamiento del hongo mediante la técnica de siembra por superficie, la cual consiste:

1. Colocar en un tubo de ensaye con 9 ml de agua destilada estéril 1 g de la muestra ( dilución 1/10 )
2. Agitar durante 30 seg.
3. Pasar 1 ml del líquido a un segundo tubo con 9 ml de agua destilada (dilución 1 /100)
4. Agitar durante 30 seg. y trasladar a un tercer tubo (dilución 1/1000 )
5. Colocar 0.1ml de cada dilución sobre el medio selectivo de Nash-Sneider (caja de petri ) y dispersar el líquido con una varilla de vidrio previamente esterilizada . Se prepararán 3 repeticiones por muestra.
6. Incubar durante 4 a 5 días a una temperatura entre 20 y 25 °C y proceder a la identificación de la especie y a la cuantificación de unidades formadoras de colonias (UFC)
7. Seleccionar las cajas de petri de la dilución adecuada que muestren entre 10 y 100 colonias por conteo, el número de UFC multiplicar por 10 y por la inversa de la dilución correspondiente y reportar la cuenta de colonias /g de muestra.

La identificación de la especie se realizó a partir de las colonias aisladas en el medio selectivo, las cuales se seleccionaron por sus características típicas de crecimiento (Manual de Nelson, 1983) y fueron resembradas en Agar Papa Dextrosa, en Agar agua- KCl (Anexo 3) y en Microcultivo. (Anexo 4)

**DETECCION DE FUMONISINAS EN EL MAIZ**

Cuantificación mediante Fumonitest (Vicam): [41]

Sistema de Cromatografía de Afinidad Inmunológica con detección Fluorométrica, el cual permite la cuantificación confiable de fumonisinas equivalente al procedimiento de Cromatografía líquida de alta resolución, actualmente utilizado en forma oficial por los organismos de supervisión de granos en Estados Unidos.

Extracción de la muestra :

1. Se colocan 50 g de muestra con 5 g de cloruro de sodio en una jarra para licuadora.
2. Se agregan 100 ml de metanol al 80% y licuan a alta velocidad durante 1 min.
3. Se pasa a través de un filtro Whatman No. 1 y colecta en un vaso de precipitado limpio.

Dilución del Extracto :

4. Pipetear 10 ml del extracto filtrado en un vaso limpio y diluir con 40 ml de solución de lavado de micotoxinas (Vicam), mezclar bien.
5. Filtrar el extracto diluido a través de filtro microfibra .

Cromatografía por Afinidad :

6. Pasar 10 ml del extracto filtrado a través de la columna de Fumonitest
7. Se lava la columna con 10 ml de solución buffer de lavado de micotoxinas, haciéndolo por duplicado;
8. Se realiza la elución de las fumonisinas con 1 ml de metanol grado HPLC y colecta en una cubeta especial de vidrio para fluorómetro.
9. Se agregan 0.5 ml de reactivo A y 0.5 ml del reactivo B (reveladores) La lectura de la concentración de fumonisinas se realiza a los 240 seg.

## Análisis de Resultados.

Para el análisis estadístico de las características de rendimiento del maíz, calidad nutricional, desarrollo de unidades formadoras de colonia y niveles de fumonisinas se utilizó el Análisis de Varianza, aplicando la prueba de Tuckey, los valores de UFC fueron transformados a logaritmo decimal 10 para su procesamiento. Para el estudio de correlación entre el daño visual de la mazorca y los niveles de fumonisinas se desarrolló una tabla de contingencia para agrupar los datos y se aplicó la prueba de Chi cuadrada [38].

# RESULTADOS

Las principales características de rendimiento de las mazorcas analizadas fueron peso y tamaño, encontrándose para las variedades UdG 600, UdG 601 y UdG 602 los pesos promedio de 98.85, 119.22 y 119.54g respectivamente (Cuadro 1).

El tamaño de las mazorcas se determinó de acuerdo al diámetro y longitud, mostrando características semejantes en las tres variedades de maíz, con valores promedio en forma general de 4.8 cm de diámetro en su porción central y de 14.68 cm de longitud (Cuadro 2).

La información presentada en los cuadros 1 y 2 sirvió de base para la determinación del tamaño mínimo de la muestra, el cual se estableció previamente en el muestreo de acuerdo al número de plantas por hectárea, sin embargo los datos que se obtuvieron en las características de rendimiento permitieron comprobar si el tamaño de muestra proporciona confiabilidad en los resultados. Para proceder a la comprobación del tamaño mínimo de muestra se utilizó el muestreo irrestricto aleatorio mediante la fórmula:

$$n = \frac{NS^2}{(N-1)D + S^2}$$

donde: $n$= Tamaño de la muestra

$N$= Tamaño de la población (40,000 plantas/ha)

$D = \frac{B^2}{4}$

$S^2$=Varianza

B=Precisión

Los criterios para determinar el tamaño de la muestra fueron: a) confiabilidad del 95% y b) precisión de 10 g, la cual equivale al 10% del peso promedio de las mazorcas. Los resultados del presente cálculo matemático establecieron un valor de 29.96, lo que determina que el tamaño de muestra (30) es apropiado para el análisis estadístico de los resultados.

El análisis bromatológico de las semillas de maíz antes de la siembra mostraron que la variedad UDG 602 fue la mejor en cuanto a porcentaje de proteína cruda con un valor de 7.4%, la variedad UDG 601 con 7.2% y la variedad UDG 600 con 6.8% (Cuadro 3).

Al realizar el análisis proximal del maíz cosechado los resultados de proteína cruda de las variedades UDG 600, UDG 601 y UDG 602 fueron 7.2, 8.5 y 7.0% respectivamente (Cuadro 4)

La clasificación del daño visual de las mazorcas permitió detectar alto porcentaje de mazorcas aparentemente sanas (APS) en las variedades UDG 600 y 602 (70%), mientras que la variedad UDG 601 sólo presentó el 40% de mazorcas APS, no se encontraron mazorcas con daño entre 10 y 25% ni con daño mayor del 50% (Cuadro 5).

El cultivo de las muestras en medios selectivos permitió el aislamiento de *Fusarium moniliforme* en el 90% de las mazorcas de la variedad UDG 600 y en el 100% de las muestras de las variedades UDG 601 y 602, no influyendo en su presentación la integridad de la mazorca, por lo que indistintamente se presentó el hongo.

Se realizó la contabilidad de unidades formadoras de colonias (UFC) de acuerdo a las características típicas de la especie. Las cuentas de UFC fluctuaron de 8 a 52,571 UFC/gramo de muestra, siendo los valores promedio de 2,967, 5,242 y 6,579 UFC/g en las variedades UDG 600, 601 y 602 respectivamente (Cuadro 6), no se encontró diferencia estadística entre las variedades de maíz, para dicho análisis fue necesaria la transformación logarítmica de los datos.

El estudio de correlación entre el daño visual de las mazorcas y el desarrollo de UFC permitió detectar diferencia estadística($p< 0.05$) mediante el análisis de varianza, el Cuadro 8 muestra los valores promedio de la agrupación de los tres rangos detectados del daño visual en las mazorcas, siendo similares estadísticamente los grupos A (0 – 2 % de daño) y B (2 – 10% de daño) respecto al desarrollo de UFC, así como el B con el C (10 – 25%), además el cuadro presenta los niveles de fumonisinas cuando se agruparon de acuerdo a la relación con el daño visual de la mazorca, sin considerar la variedad del maíz.

Las fumonisinas se detectaron en el total de las muestras de maíz, sin encontrarse diferencia estadística ($p>0.05$) entre variedades, los niveles promedio fueron de 6.6 ppm, 6.12 ppm y 6.78 ppm en las variedades UDG 600, 601 y 602 respectivamente (Cuadro 7). Cuando se analizó si se presentaba correlación estadística de los niveles de fumonisinas con el daño visual independientemente de la variedad de maíz sólo se valoró para los

grupos A y C, los cuales presentaron correlación positiva (a mayor daño mayor nivel de fumonisinas), no fue posible aplicarlo en el grupo B ya que existió sólo una observación.

La relación entre el daño visual de las mazorcas y el contenido de fumonisinas se determinó mediante la prueba de Chi cuadrada. Los resultados se presentan en el Cuadro 9, encontrándose una dependencia entre las filas y las columnas de la tabla de contingencia. Por lo que en este estudio se puede concluir que el daño visual indica de manera significativa cierto contenido de fumonisinas. Para este estudio se consideró el nivel de fumonisinas de 6.7 ppm ya que se encuentra relacionado con la incidencia de cáncer esofágico de humanos, nivel encontrado en maíz aparentemente sano [6].

Las condiciones ambientales que se presentaron en la zona evaluada durante el cultivo y la cosecha se observan en las gráficas 1 y 2, de acuerdo a lo encontrado se determina que durante el ciclo del maíz no se llegaron a presentar limitaciones de temperatura, existiendo condiciones favorables de humedad para el desarrollo de *Fusarium*. Además tales condiciones no mostraron deficiencias en el temporal de lluvias que pudieran afectar el rendimiento del cultivo.

**Cuadro 1**
**PESO DE LAS MAZORCAS**
(gramos)

| | UDG-600 | UDG-601 | UDG-602 |
|---|---|---|---|
| Promedio | 98.25 | 119.22 | 119.54 |
| Desviación Estándar | 16.88 | 34.17 | 28.21 |
| Varianza | 284.91 | 1167.4 | 769.55 |
| Máximo | 121.3 | 179.3 | 176.7 |
| Mínimo | 64.3 | 71 | 92.7 |

**Cuadro 2**
**CARACTERISTICAS DE LAS MAZORCAS**
(centímetros)

| | UDG 600 | | UDG 601 | | UDG 602 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Diámetro | Longitud | Diámetro | Longitud | Diámetro | Longitud |
| Promedio | 4.73 | 14.70 | 4.93 | 14.85 | 4.81 | 15.01 |
| Desviación Estándar | 0.37 | 2.04 | 0.39 | 2.87 | 0.45 | 2.84 |
| Máxima | 5.6 | 18 | 5.4 | 20.5 | 5.8 | 21 |
| Mínima | 3.8 | 11 | 4.2 | 11 | 3.9 | 9 |

**Cuadro 3**
**ANALISIS PROXIMAL DE LAS VARIEDADES DE MAIZ**
Semillas antes de la Siembra
(%)

| | UdG 600 | UdG 601 | UdG 602 |
|---|---|---|---|
| Materia seca | 94.3 | 95.1 | 96.6 |
| Humedad | 5.7 | 4.9 | 3.4 |
| Proteína cruda | 6.8 | 7.2 | 7.4 |
| Grasa cruda | 4.6 | 4.4 | 4.2 |
| Cenizas totales | 1.2 | 1.0 | 1.0 |
| Fibra cruda | 3.0 | 2.7 | 2.6 |
| ELN | 78.7 | 79.8 | 81.4 |

**Cuadro 4**
**ANALISIS PROXIMAL DE LAS VARIEDADES DEL MAIZ COSECHADO**
**(%)**

| | UdG 600 | UdG 601 | UdG 602 |
|---|---|---|---|
| Materia seca | 94.3 | 95.2 | 94.3 |
| Humedad | 5.7 | 4.8 | 5.7 |
| Proteína cruda | 7.2 | 8.5 | 7.0 |
| Grasa cruda | 3.7 | 3.6 | 4.5 |
| Cenizas totales | 1.4 | 1.3 | 1.3 |
| Fibra cruda | 3.3 | 3.4 | 3.4 |
| ELN | 78.7 | 78.4 | 78.1 % |

BIBLIOTECA CENTRAL



**Cuadro 5**
**CLASIFICACION DEL DAÑO VISUAL DE LAS MAZORCAS**
**(%)**

| DAÑO VISUAL | UDG 600 | UDG 601 | UDG 602 |
|---|---|---|---|
| **0 – 2 %** | 70 | 40 | 70 |
| **2 – 10 %** | 30 | 40 | 10 |
| **10 – 25 %** | 0 | 0 | 0 |
| **25 - 50 %** | 0 | 20 | 20 |

**Cuadro 6**
**DESARROLLO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS**
**(UFC)**

| | UDG 600 | UDG 601 | UDG 602 |
|---|---|---|---|
| Promedio | 2,826.4 | 5,442.3 | 6,579.5 |
| Desviación Estándar | 6,127 | 14,128 | 16,221 |
| Máximo | 20,000 | 43,538 | 52,571 |
| Mínimo | 27 | 8 | 83 |

**Cuadro 7**
**NIVELES DE FUMONISINAS EN LAS VARIEDADES DE MAIZ (ppm)**

| | UDG 600 | UDG 601 | UDG 602 |
|---|---|---|---|
| Promedio | 6.6 | 6.12 | 6.78 |
| Desviación Estándar | 6.135 | 4.59 | 3.815 |
| Máximo | 22 | 16 | 15 |
| Mínimo | 2.3 | 2.2 | 1.2 |

**Cuadro 8**
**RELACION ENTRE DAÑO VISUAL DE LA MAZORCA, UFC/g Y NIVELES DE FUMONISINAS**

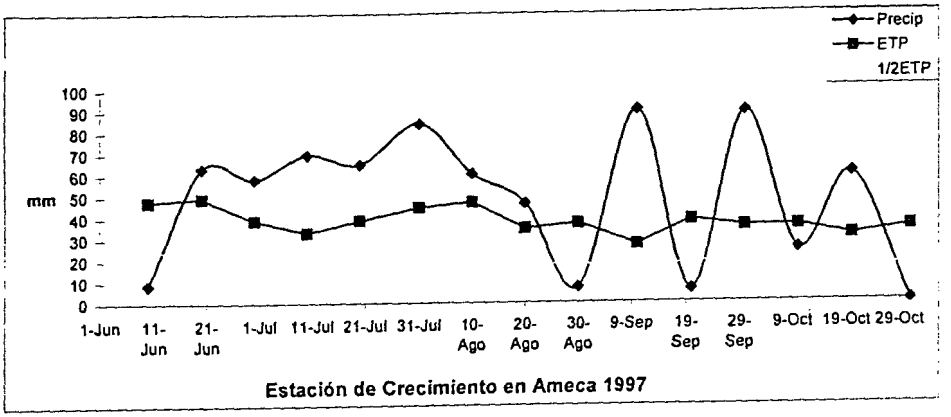
| DAÑO VISUAL | UFC/g | FUMONISINAS (ppm) |
|---|---|---|
| **0 – 2 %** | 1,890.6 | 5.7 (25) |
| **2 – 10 %** | 1,884.4 | 16 (1) |
| **25 – 50 %** | 24,843.7 | 9.05 (4) |

**Cuadro 9**
**RELACION ENTRE DAÑO VISUAL DE LA MAZORCA Y NIVELES DE ALTO RIESGO DE FUMONISINAS**

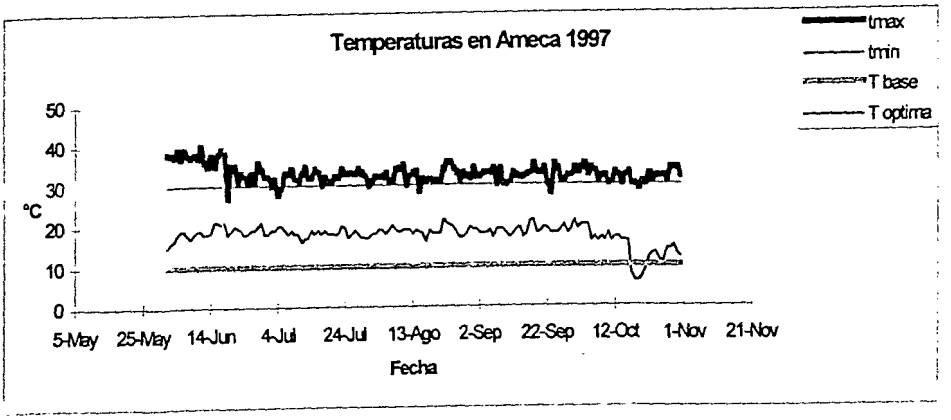
| DAÑO VISUAL | N.F. < 6.7 ppm | N.F. 6.7 PPM | TOTAL |
|---|---|---|---|
| < 2% | 18 | 7 | 25 |
| > 2% | 1 | 4 | 5 |
| | 19 | 11 | 30 |

| | |
|---|---|
| $X^2c$= 4.852 | $X^2t$= 3.8415 |

## Gráfica 1
## PRECIPITACION Y EVAPORACION ACUMULADAS DE JUNIO A OCTUBRE DE 1997 EN AMECA, JALISCO




## Gráfica 2
## TEMPERATURAS MAXIMAS Y MINIMAS REGISTRADAS DE JUNIO A OCTUBRE DE 1997 EN AMECA, JALISCO



# DISCUSION

El elevado rendimiento de los híbridos actuales es el resultado de buenas combinaciones de plantas. Dentro de las características que contribuyen al rendimiento del maíz, se encuentran el número y tamaño de los granos, determinado por la longitud de la mazorca, el número de mazorcas por planta y el número de plantas por unidad de área [19].

Si bien el propósito del presente estudio no fue evaluar el rendimiento de las variedades de maíz, se consideraron las mediciones de peso (desgranado) y longitud de las mazorcas, las cuales permiten determinar si las mazorcas cubren un desarrollo apropiado de manera que no influya el rendimiento de cada variedad sobre la resistencia al ataque de hongos, entre estos *Fusarium.*

Aunque no se observaron diferencias estadísticas entre las variedades respecto a peso y longitud, la variedad UDG 600 mostró el menor peso y a su vez le correspondió las menores mediciones, sin embargo fue la variedad de la cual se obtuvieron el mayor número de mazorcas sanas. La composición química de las variedades de maíz antes de la siembra y después de la cosecha se mantuvo dentro de los rangos aceptables para el maíz blanco [16].

La clasificación de las mazorcas con respecto al daño visual permitió detectar un alto porcentaje de muestras aparentemente sanas, lo que concuerda con estudios previos [8,31], sin embargo no se considera determinante sobre la inocuidad del maíz, ya que la variedad con mayor número de mazorcas sanas presentó el 100% de incidencia de *F. moniliforme,* mientras que las variedades con mayor número de muestras dañadas la incidencia del hongo fue menor.

La relación entre el daño visual y el desarrollo de UFC/g permite establecer una correlación positiva, por lo que mazorcas con daño aparente presentan cuentas significativas de UFC de *F. moniliforme*/g de maíz, efecto observado en otros estudios [31]. Este efecto debe ser considerado durante el manejo y almacenamiento del maíz, ya que será determinante la selección de mazorcas sanas o con daño menor a 10% para mantener la calidad del maíz y sus productos.

La cuenta de UFC/g de muestra entre las variedades de maíz se consideró similar estadísticamente, sin embargo se debe mencionar que esto

puede ser atribuido al amplio rango de valores que se presentaron (8-52,571 UFC/g), coincidiendo las cuentas mayores a las variedades UDG 601 y 602, que a su vez obtuvieron un mayor porcentaje de mazorcas dañadas. Estudios relacionados con el desarrollo de UFC en fracciones de maíz a partir de granos infectados con *Fusarium*, mostraron valores entre 100 y 64,000 UFC/g, encontrándose las cuentas mayores en el salvado y germen, la harina y hojuelas de maíz presentaron el menor desarrollo, los resultados indican la localización del organismo en el área del germen y bajo el pericarpio [6].

Castro S.M.X. en 1997 reporta en maíz cosechado en el municipio de Jocotepec, Jalisco cuentas de 300 a 90,000 UFC/g cuando las mazorcas fueron APS y de 5,000 a 1,160,00 UFC/g en muestras con daño visual de 2 a 50% [8].

Los niveles de fumonisinas detectados en el presente estudio fueron similares en el análisis estadístico en las tres variedades de maíz, los niveles promedio se encontraron entre 6.12 y 6.78 ppm, niveles que en investigaciones realizadas en Transkei, Sudáfrica, se han reportado relacionados con el cáncer esofágico de humanos, estos datos se determinaron a su vez en maíz considerado sano, siendo los niveles de fumonisinas de 140.5 ppm los que se encontraron en el maíz mohoso [11].

La detección de fumonisinas en las tres variedades de maíz fue positiva en el 100% de las muestras y varió de 1.2 a 22 ppm, dichos hallazgos indican que puede haber un riesgo de exposición a fumonisinas a través del consumo de algunos alimentos a base de maíz.

Investigaciones realizadas en diferentes países han reportado niveles de fumonisinas en maíz con alto porcentaje de muestras contaminadas, en Italia se reportan niveles mayores de 2 ppm, en harina de maíz de 4.4 ppm y en maíz inflado de 0.9 a 6.6 ppm, en Egipto de 1.8 a 3 ppm en harina de maíz, Brasil 0.2 a 38.5 ppm[6], en Argentina los niveles de fumonisinas se analizaron en diferentes estados de desarrollo de la mazorca, encontrándose niveles mayores en las etapas finales de la madurez en un rango de 0.08 a 16.76 ppm.. En Maryland, Estados Unidos, recientemente se reportan niveles de fumonisinas de 3.5 a 7.4 ppm en maíz blanco y de 0.5 a 4.75 en maíz amarillo. [30]

Las condiciones climáticas que prevalecieron durante la época del cultivo y cosecha de maíz se consideran fueron apropiadas para el buen rendimiento del grano, sin embargo fueron propicias para el desarrollo de especies de hongos del género *Fusarium* y de la producción de fumonisinas,

por lo que existe el riesgo de contaminación de alimentos producidos a partir del maíz.

Por los resultados obtenidos en el presente estudio se concluye que existe alta incidencia de *Fusarium moniliforme* en maíz de la región de Ameca, Jalisco, zona donde prevalecen condiciones climáticas apropiadas para el desarrollo de hongos productores de micotoxinas, efecto que se presentó en las tres variedades de maíz analizadas, siendo necesario un mayor número de estudios que determinen las regiones con menor incidencia de esta especie de hongo y además el estudio de las variedades e híbridos que se siembren con mayor frecuencia en cada región.

# CONCLUSIONES

1. Las condiciones ambientales de humedad y temperatura que se presentaron en la zona agrícola de Ameca fueron favorables para el desarrollo de *Fusarium moniliforme* y la producción de fumonisinas.

2. Las variedades de maíz UDG-600, UDG-601 y UDG-602 presentaron características de rendimiento aceptables y similares entre ellas.

3. Las variedades de maíz UDG-600 y UDG-602 mostraron el mayor porcentaje de muestras sanas, sin que existiera correlación estadística entre el daño visual y la presencia de *F. moniliforme.*

4. Se encontró correlación estadística positiva entre el daño visual de la mazorca y el desarrollo de UFC/g independientemente de la variedad de maíz.

5. Los niveles promedio de fumonisinas detectados en el maíz fluctuaron de 6.12 a 6.78 ppm, sin presentarse diferencia significativa entre variedades.

6. Por la alta incidencia de *F. moniliforme* en el maíz y la presencia de fumonisinas a niveles mayores de 6 ppm se considera que el maíz cultivado en Ameca, Jalisco presenta alto riesgo tóxico para salud humana y animal.

# BIBLIOGRAFIA


1. **Bartolini R.** (1990) Plagas, enfermedades y fisiopatías del maíz. En:El. Mundi Prensa. Madrid España pp. 237-266.

2. **Bacon CH. W.** y Nelson P.E. (1994) Fumonisin Production in corn by toxigenic Stains of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium Proliferatum.* J. Food Prot. 6 :514-521.

3. **Bezuidenhout S.C.** y Gelderblom W.C.A. (1988) Structure elucidation of fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. J. Chem. Soc. Commun. 4 :743-745.

4. **Bullerman LL.B.** y Draughon F.A. (1994) *Fusarium moniliforme* and Fumonisin Symposium. J.Food Prot. 57 (6): 513.

5. **Bullerman LL.B.** y Northolt M.D. (1982) Prevention of mold growth and toxin production through control of environmental conditions. J. Food Prot. 45(6): 519-526.

6. **Bullerman LL.B.** y Tsai Wei-Yun J. (1994) Incidence and levels of *Fusarium moniliforme, Fusarium proliferatum* and fumonisins in corn and corn-based Foods and Feeds. J. Food Prot. 57 (6): 541- 546.

7. **Castelo M.M,** Sumner S.S. y Bullerman M.B. (1998) Occurrence of fumonisins in corn – based Food Products, J: Food Prot. 61 (6): 704-707

8. **Castro S.M.X.** (1997) Valoración del nivel de contaminación del maíz por *Fusarium moniliforme* en Huejotitán, mpio. de Jocotepec, Jalisco. Tesis de Licenciatura de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U. de G. pp:14-20.

9. **Cavaglieri L.,** Etcheverry M. y Chulze S. (1997) Control Biológico sobre *Fusarium moniliforme,* uso potencial de *Bacillus subtililis.* Memorias. II Congreso Latinoamericano de Micotoxicología, Maracay, Venezuela. 14 al 18 de Julio de 1997.

10. **Colvin B.M.,** Cooley A.J. y Beaver R.W. (1993) Fumonisin toxicosis in swine : Clinical and Patologic findings. J. Vet. Diagn. Invest. 5 :232-241.

BIBLIOTECA CENTRAL



**11. Chu F.S.** y Li G.Y. (1994) Simultaneous ocurrence of Fumonisin B1 and other mycotoxins in moldy corn collected from the People´s Republic of China in regions with high incidens of esophageal cancer. Appl. Environ. Microbiol. 60(3) :847-857.

**12. Desjardins A.E.**, Plattner R.D. y Nelson P.E. (1994) Fumonisin production and other traits of *Fusarium moniliforme* strains from maize in Northeast Mexico. Appl. Environ. Microbiol. 60(5) :1695-1697.

**13. Desjardins A.E.**, Plattner R.D., Shackelford D.D., Leslie J.F. y Nelson P.E. (1992) Heritability of fumonisin B1 production in *Gibberella fujikoroi* mating population A. Appl. Environ. Microbiol. 58(9): 2799-2805.

**14. Doko M.B**, Rapior S., Visconti A. Y Schjoth J.E. (1995) Incidence and Levels of Fumonisin Contamination in Maize Genotypes Grown in Europe and Africa. J. Agric. Food Chem. 43: 429-434.

**15. García T.M.** 1995) Confirmación Química y Estudio Epizootiológico de Fumonisina B1 en maíz de Oaxaca causante de Leucoencefalomalacia Equina. Tesis de Licenciatura de Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M.

**16. Gonzalez A.V.** (1995) El maíz y su conservación. Ed. Trillas, México. Pp. 214-251.

**17. Hendrich A.**, Miller K.M., Wilson T.M. y Murphy P.A. (1993) Toxicity of Fusarium proliferatum fermented nixtamalized corn based diets fed to rats: Effect of nutritional status. J. Agric. Food Chem. 41:1649-1654.

**18. Hopmans E. C.** y Murphy P.A. (1993) Detection of fumonisins B1, B2, B3 and hidrolized fumonisin B1 in corn containing foods. J. Agric. Food Chem. 41:1655-1658.

**19. Jugenheimer R.W.** (1981) Maiz. Variedades mejoradas, metodos de cultivo y producción de semillas. Ed. Limusa México Pp. 225-234

**20. Marijanovic D.R.**, Holt P.,Norred W.P., Bacon C.W., Voss K.A., Stancel P.C. y Ragland P. (1991) Inmunosuppressive effects of *Fusarium moniliforme* corn cultures in chickens. Poultry Sci. 70 :1895-1901.

**21. McMillan, W.W.** (1987) Relation of insects to aflatoxin contamination in maize grown in southeastern USA. In zuber M.S. . Aflatoxin in Maize: A proceeding of the workshop. CIMMYT, México, D.F. pp: 194-200.

**22. Moreno M.E.,** (1988) Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados. Universidad Nacional Autónoma de México., México, D.F. pp:17-38, 78-83.

**23. Musser, S.T.** y Plattner R.D. (1997) Fumonisin composition in cultures of *Fusarium moniliforme, Fusarium proliferatum and Fusarium nygami.* J. Agric. Food Chem. 45:1169-1173.

**24. Nelson P.E.,** Toussoum T.A., and Marasas W.F.O., (1983) *Fusarium species.* An illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University, USA., pp: 7, 128-131.

**25. Nelson P.E.**, Dignani M.C. y Anaisssie E.J. (1994) Taxonomy, Biology and Clinical Aspects of *Fusarium* Species. Clin. Microbiol. Rev. 7(4) :479-504.

**26. Nelson P.E.**, Plattner R.D., Shackelford D.D. y Desjardins A.E. (1992) Fumonisin B1 production by Fusarium species other than *Fusarium moniliforme* in section Liseola and by some related species. Appl. Environ. Microbiol. 58(3) :984-989.

**27. Norred W.P.** y Voss K.A. (1994) Toxicity and role of fumonisins in animal deseases and human esophageal cancer. J. Food Prot. 57(6) :522-527.

**28. Peña S.D.** y Durán de Bazúa M.C. (1990) Efecto tóxico de aflatoxinas en la dieta., Ciencia y desarrolo Vol. XVI. No. 94, pp. 61-70

**29. Reyes V.W.P.** (1997) Producción de fumonisinas por cepas de *Fusarium moniliforme* aisladas en una localidad al sur del estado de Jalisco. Memorias del II Congreso Mexicano de Toxicología. Universidad Autonoma Metropolitana, Iztapalapa. Mexico D.F. pp. 29.

**30. Ronald T. Riley,** William P. Norred, and Charles w. Bacon., (1993) Fungal Toxins in foods: Recent concerns., Annu. Rev. Nutr. 13: 167-189

**31. Rodriguez S.R.S.** (1994) Estudio preliminar de correlaciones entre el desarrollo de colonias de *Fusarium moniliforme* in vitro, escala visual del daño en mazorca y contenido de fumonisinas en el cultivo de maíz (Zea mayz L.) Tesis de Licenciatura Ing. Agrícola de U.A.G. pp:7-21.

**32. Ross P.F.**, Nelson P.E., Richard J.L., Osweiler G.D., Rice L.G., Plattener R.D. y Wilson T.M. (1990) Production of Fumonisins by *Fusarium moniliforme* isolates associated with equine leucoenceplalomalacia and pulmonary edema syndrome in swine. Appl. Environ. Microbiol. 56 :3225-3226.

**33. Sala N.**, Sanchis V., Vilaro P., Viladricha R., Torres Ma. Viñas I. y Canela R. (1994) Fumonisin producing capacitiy of *Fusarium* Strains isolated from cereals in Spain. J. Food Prot. 10 :915-917.

**34. Sanchez S.M.R.** (1987) Estudio Anatomopatológico de tres casos de Leucoencefalomalacia en Equinos.Tesis de Licenciatura de la Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M.

**35. Scheafer R.L.** Mendenhall W. y Ott L.(1986). Elementos de muestreo. Tr. Del Ingles por G. Rendon S. y J.R. Gómez A. México. Gpo. Ed. Iberoamericana Cap. 4. 40-66pp.

**36. Schroeder P.M.** , Crane H.M., Xia J., Liotta D.C. y Merrill A.M. (1994) Disruption of sphingolipid metabolism and stimulation of DNA synthesis by fumonisin B1. J. Biol. Chem. 269(5):3475-3481.

**37. Snedecor G.W.** Y Cochran, W.G. (1977). Metodos estadisticos. Tr. Del Inglés por: J.A. Reynosa F. México CECSA.

**38. Steel R.G.D.**, Torrie J.H. (1986) Bioestadística: Principios y Procedimientos. Segunsa Edición Ed. McGraw-Hill. Mexico D.F.

**39. Thiel P.G.**, Marasas W.F.O., Sydenham E.W. (1992) The implications of naturally occurring levels of fumonisins in corn for human and animal heath. Mycophatologia. 117 :3-9.

**40. Visconti A.** y Doke B. (1994) Survey of fumonisin production by Fusarium isolated from cereals in Europe. J. AOAC International. 77(2) :546-550.

**41. Ware, G.M.,** Umrigar, P.P., Carman Jr., (1994) A.S. Analytical Letters, Evaluation of Fumonitest immunoaffinity columns, 27(4): 693-715.

# ANEXO 1
# CARACTERISTICAS DE LAS VARIEDADES UDG-600, UDG-601 Y UDG-602

## UDG – 600

### CARACTERISTICAS:

| | |
|---|---|
| DIAS A FLORACION: | 65 - 70 |
| DIAS A COSECHA: | 150 |
| CICLO VEGETATIVO: | INT – TARDIO |
| ALTURA DE PLANTA: | 2.20 – 2.50 M. |
| INSERCION DE MAZORCA: | 1.20 M |
| DENSIDAD DE SIEMBRA: | 20 KG/HA |
| COLOR DE GRANO: | BLANCO |
| AREA ADAPTACION: | 0 - 1,800 m.s.n.m. |

## UDG – 601

### CARACTERISTICAS:

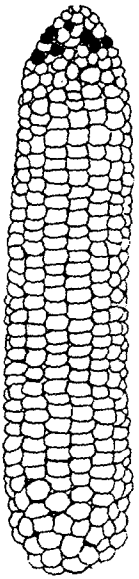
| | |
|---|---|
| DIAS A FLORACION: | 70 |
| DIAS A COSECHA: | 150 |
| CICLO VEGETATIVO: | INT – TARDIO |
| ALTURA DE PLANTA: | 2.20 – 2.40 M. |
| INSERCION DE MAZORCA: | 1.20 M |
| DENSIDAD DE SIEMBRA: | 20 KG/HA |
| COLOR DE GRANO: | BLANCO |
| AREA ADAPTACION: | 0 - 1,800 m.s.n.m. |

## UDG – 602

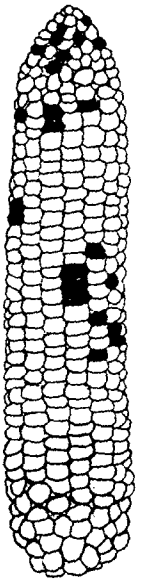
### CARACTERISTICAS:

| | |
|---|---|
| DIAS A FLORACION: | 60 - 65 |
| DIAS A COSECHA: | 130 - 140 |
| CICLO VEGETATIVO: | INT – TARDIO |
| ALTURA DE PLANTA: | 2.20 – 2.30 M. |
| INSERCION DE MAZORCA: | 1.10 M |
| DENSIDAD DE SIEMBRA: | 20 KG/HA |
| COLOR DE GRANO: | BLANCO |
| AREA ADAPTACION: | 0 - 1,800 m.s.n.m. |

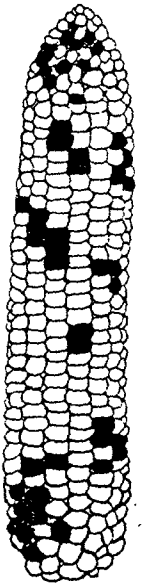
# ANEXO 2
## CLASIFICACIÓN DEL DAÑO VISUAL DE LA MAZORCA
(Dolezal 1994)



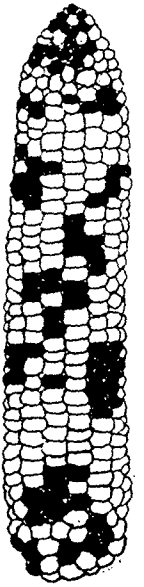
Daño Visual 0 – 2 %



Daño Visual 2 – 10 %



Daño Visual 10 – 25 %



Daño Visual 25 – 50 %

# ANEXO 3
# PREPARACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

**Preparación del medio selectivo de Nash - Sneider:**

Contiene : 15.0 g Difco peptona
1.0 g $KH_2PO_4$
0.5 g $MgSO_4$
20.0 g Agar bacteriológico
1.0 g Pentacloronitrobenceno ( terraclor )
1000.0 ml Agua destilada.

El medio es ajustado a un pH de 5.5 a 6.5, se esterilizará en autoclave a 15 lb. durante 20 minutos, posteriormente se le agregará 20 ml de sulfato de Estreptomicina en solución (5 g de Estreptomicina, 750 unidades de Estreptomicina base /mg en 100 ml de agua destilada) y 12 ml de sulfato de Neomicina en solución (1 g de sulfato de Neomicina, 702 mg de Neomicina base /mg en 100 ml de agua destilada) por cada litro, posteriormente se distribuye a las cajas de petri previamente esterilizadas.

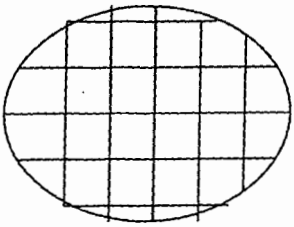
**Medio de Agar papa dextrosa:**
39 g de agar papa dextrosa por litro de agua destilada.

Siembra: Se incubará durante 8 días a una temperatura de 25 °C y procederá a identificar las características de crecimiento de la colonia según la Técnica descrita por Nelson en 1983 [21]

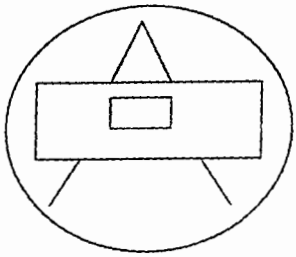
**Medio de Agar agua-KCl:**
5 g de KCl + 15 g de agar bacteriológico por litro de agua destilada.

Siembra: Se incubará de 5-8 días a una temperatura de 25 °C y observará al microscopio las características específicas de las conidias (cadenas típicas en *F. moniliforme*), mediante la toma directa del micelio aéreo con cinta adhesiva, la cual se colocará sobre un portaobjetos.

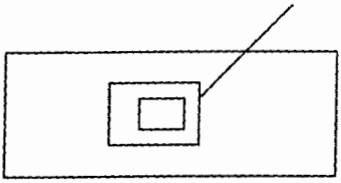
# ANEXO 4
# TECNICA Y TINCION PARA EL MICROCULTIVO



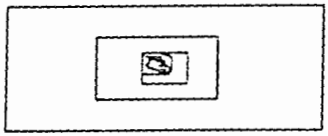
1) Preparar Medio base de agar papa dextrosa (cortar en cuadros)



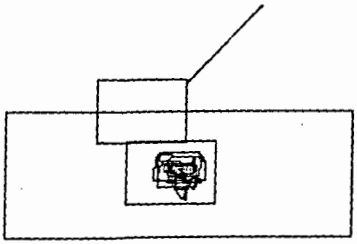
2) Colocar en caja de petri una varilla doblada sobre una gasa, además de un portaobjeto y cubreobjeto (esterilizar).



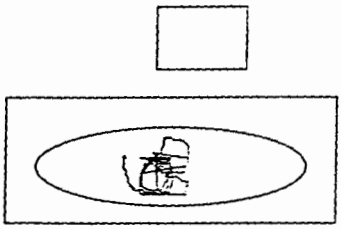
3) Colocar un bloque de agar sobre el portaobjetos y sembrar la muestra fungal, poner el cubreobjeto, agregar 10 ml de agua destilada estéril e incubar 8 días.



4) Al término de la Incubación se procede a la tinción con azul de lactofenol para su observación al microscopio.



4.1) Se retira el cubreobjeto y el medio de agar y sobre el crecimiento del hongo en el portaobjetos se tiñe con azul de lactofenol



4.2) Se procede de la misma manera con el cubreobjeto y se observan al microscópio.