

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS
BIOLOGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISION DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**VALORACION DEL NIVEL DE CONTAMINACION
DEL MAÍZ POR *Fusarium moniliforme* EN
HUEJOTITAN, MUNICIPIO DE JOCOTEPEC,
JALISCO**

TESIS PROFESIONAL

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A :

María Xochilt Castro Sotelo

DIRECTOR:

M.C. Waldina Patricia Reyes Velázquez

Las Agujas Nextipac, Zapopan, Jal., Junio de 1997.

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS
DIVISION DE CIENCIAS VETERINARIAS

“VALORACION DEL NIVEL DE CONTAMINACION DEL MAIZ POR
Fusarium moniliforme EN HUEJOTITAN, MUNICIPIO DE JOCOTEPEC,
JALISCO.

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA
PRESENTA :

MARIA XOCHILT CASTRO SOTELO.

DIRECTOR:
M.C. WALDINA PATRICIA REYES VELAZQUEZ.

ASESOR:
M.V.Z. SILVIA RUVALCABA BARRERA.

Las Agujas Nextipac, Zapopan, Jal., junio de 1997

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	X
INTRODUCCIÓN	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	7
JUSTIFICACION	8
HIPOTESIS	9
OBJETIVOS	10
MATERIAL Y MÉTODO	11
RESULTADOS	14
DISCUSION	17
CONCLUSIONES	20
ANEXOS	21
BIBLIOGRAFÍA	27

RESUMEN

Fusarium moniliforme es un hongo productor de diversas micotoxinas en el maíz, entre las que se incluye a las fumonisinas, de las cuales la FB1 y FB2 son consideradas de mayor interés por su actividad promotora de cáncer. Se considera un hongo de distribución mundial, de alta incidencia en el maíz (90%) y gran capacidad productora de fumonisinas (90% de las cepas aisladas). Puesto que la contaminación por *Fusarium moniliforme* puede variar según las condiciones geográficas y los métodos de producción y almacenamiento de grano, se realizó el presente estudio con el propósito de valorar el grado de contaminación del maíz cosechado en Huejotitán, municipio de Jocotepec, Jalisco. Se muestrearon 4 parcelas en un área aproximada de 16 hectáreas, se obtuvieron 5 mazorcas de cada parcela. El aislamiento se efectuó en el medio selectivo de Nash y Sneider y la identificación se realizó en Agar Papa Dextrosa, Agar agua (KCl) y microcultivo. Los resultados encontrados en esta investigación realizada bajo un diseño completamente al azar, mostraron el 70% de las mazorcas con un daño visual menor al 2%, sin que se encontrara relación entre el daño de la mazorca y el desarrollo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Se aisló a *Fusarium moniliforme* en el 80% de las mazorcas, coincidiendo con lo reportado en otros estudios.

INTRODUCCION

El maíz (*Zea mays L.*) es un cereal nativo del hemisferio occidental, originario de México y de distribución a Europa, Africa y Asia después del descubrimiento de América. 11

Representa el 5.4% del total de las fuentes alimenticias de la población humana, ocupando el tercer lugar de la producción mundial de granos después del trigo y el arroz, con 445.3 millones de toneladas métricas. 2

En nuestro país es el alimento de mayor importancia, con un consumo per cápita de 300 g /día, lo que aporta el 56% de las calorías y el 47% de las proteínas de la alimentación. Se estima que el maíz cubre el 51% del área total cultivada, correspondiendo a Jalisco el primer lugar de la producción nacional, con un total de 2,052,728 t/año. Del total de maíz producido, 59.5% se consume en tortillas, 4.7% es procesado por la industria almidonera y 35.8% se destina a otros usos, como semillas, alimento animal y consumo por parte del agricultor. 11

La clasificación del maíz puede ser considerada desde el punto de vista botánico ó taxonómico, comercial, estructural, especial y en función de su calidad.

Taxonómicamente, corresponde al reino Vegetal, clase Angiospermae, familia Gramineae, género *Zea* y especie *mays*.

Comercialmente se clasifica como maíz blanco según la Norma Oficial, el que contiene menos del 5% de maíz amarillo u otros maíces oscuros, seleccionados por las industrias harineras y almidoneras debido al color que imparten al producto terminado, por lo regular, su precio es mayor que el del maíz amarillo; el cual se define como aquel de granos amarillos o amarillos con tonos rojizos, presenta menos del 6% de otros colores, se utiliza principalmente para la alimentación animal directamente o como gluten forrajero. Además se tiene el maíz mezclado (contiene amarillo y blanco) y el pinto (maíz blanco, amarillo y mezclado que contenga más del 5% de oscuros, como rojo, azul y morado). 2,11

Respecto a su estructura, el maíz puede ser dentado, cristalino, amiláceo, dulce, palomero y tunicado. Cuando el maíz es alterado por medios genéticos para producir modificaciones en el almidón, proteínas, aceite y otras propiedades, se le clasifica como Especial, y puede ser maíz cereo, amylomaíz o de alta amilosa, de alta lisina ó de alto contenido de aceite. 11

Si bien el maíz es de elevada calidad nutricional, es importante mencionar que en su cultivo a menudo surgen problemas que ocasionan importantes pérdidas económicas, al reducir la cosecha en cantidad y calidad.

Entre los principales problemas que afectan la planta del maíz se mencionan las enfermedades parasitarias (infecciosas) y las no parasitarias (no infecciosas). Las primeras son ocasionadas por hongos, bacterias, virus, micoplasmas, nemátodos y plantas parásitas. Las no parasitarias, resultan de condiciones de crecimiento desfavorables, tales como deficiencia o desequilibrio de los nutrientes del suelo o del agua, extrema acidez o alcalinidad del suelo, temperaturas extremas, contaminantes aéreos, daños mecánicos o por pesticidas. 2,11,26

A nivel mundial, después de los insectos, los hongos son los principales causantes de la reducción de la calidad de los cereales, lo que trae como consecuencia la mayoría de las pérdidas durante el almacenamiento.

El maíz se considera un substrato ideal de los hongos, los cuales invaden preferentemente el germen, produciendo debilidad, oscurecimiento y muerte. Generalmente los hongos se clasifican como de campo y de almacén, y causan decoloraciones en el germen o en toda la semilla, pudiendo adquirir coloraciones diversas a medida que avanza la infección. 22

Los hongos de almacén de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Sporendonema*, *Rhizopus*, *Mucor* y *Nigrospora* pueden desarrollarse en el grano almacenado que se ha rehidratado causando daño al germen, malos olores y calentamiento lo que puede producir incendio en la bodega. 11, 26

Los hongos de campo requieren altos contenidos de humedad para desarrollarse (20-21% en base húmeda) e invaden y atacan los granos antes de la cosecha. Los géneros que conforman a este grupo son:

a) *Alternaria sp*; común en cereales.

b) *Cladosporium sp*; usual en cereales que han sido expuestos a condiciones ambientales húmedas antes de la cosecha, en especial cuando el grano se cosecha con cascarilla, ejemplo el arroz, avena y cebada.

c) *Helminthosporium sp*; causante de decoloración y pérdida de germinación.

d) *Fusarium sp*; usual en granos recién cosechados, causa daño en el germen, productor de la roña del maíz, puede ser tóxica al hombre y animales. Es considerado de campo o de almacén. 10,11,29

Los hongos pertenecientes al género *Fusarium*, de la sección *Liseola* son considerados de gran interés por ser notoriamente tóxicos, entre los que se encuentran, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium proliferatum*, los cuales producen diversas toxinas, entre las que sobresalen las fumonisinas. 1,3,4,14,28

Químicamente las fumonisinas son diésteres de ácido tricarbóxico y C22 amino-alcoholes, actualmente se conocen 7, clasificadas como: B1 (FB1), FB2, FB3, FB4, FC1, FA1 y FA2. 12,13,15,28

La FB1 ha demostrado ser responsable de la mayoría de las afecciones toxicológicas, entre éstas la Leucoencefalomalacia equina, Edema pulmonar porcino, hepatotoxicidad en diversas especies, cáncer en hígado e hiperplasia esofágica en ratas. 7,9,19,20,23,25,30,31

Además se han asociado altos niveles de fumonisinas con aumento en la incidencia de cáncer esofágico humano en Sudáfrica y China. 5,10,18,27,33

Las Fumonisinias no solo son producidas, por *F. moniliforme* y *F. proliferatum*, existen otras especies como *F. anthophilum*, *F. nygamai*, *F. dlamini*, *F. napiforme*, sin embargo no se consideran de interés ya que no se asocian a productos alimenticios. 6,16,18,32

Características de *Fusarium moniliforme*.

Es un hongo de distribución mundial y se presenta no solo en zonas de temperatura húmeda o subhúmeda, sino también en zonas tropicales y subtropicales. 16

El telemorfismo del hongo es *Gibberella fujikuroi*, formado por un complejo de 6 poblaciones apareadas, con miembros de la A a la F. 17, 28 Se le puede aislar en cereales como el maíz, sorgo, avena, arroz y trigo, además en cacahuate, algodón, frijol, platano, remolacha, pimienta verde, soya, caña de azúcar, y en forrajes como *Panicum coloratum*, alfalfa y trebol rojo. Se ha aislado en queratitis micóticas y en varios tipos de cáncer en pacientes humanos en Estados Unidos y Canadá. Ocasionalmente se ha aislado en diversos tipos de agua, como de estanques de estabilización y sedimentación. 15, 17, 21, 32

El rango de infección de *F. moniliforme* en cereales es de 9 a 91% en lotes de semillas, y en algunos casos puede ser de 100%, siendo influenciado por factores abióticos como las tormentas y factores bióticos, como el maíz cultivado o la cepa del hongo. 4, 22

La asociación del hongo en la planta de maíz es endofítica, mientras que en el germen es externa o sistémica. La naturaleza de la infección del germen puede ser de manera que no se afecte la germinación de la semilla, sin embargo el vigor y el crecimiento se ven reducidos. 4,15,21

El hongo puede localizarse por debajo del tejido vascular de cada germen, desde su punta hasta donde se implanta a 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 por un año o más. 1,3

Estudios de laboratorio indican que *F. moniliforme* puede permanecer en la semilla de maíz viable hasta por 8 años, debido a su localización sistémica, lo que provee condiciones favorables para mantener su virulencia y viabilidad por años. 21

F. moniliforme produce dos clases de esporas, las macroconideas, de sobrevivencia mayor, que actúan acarreado al hongo durante las estaciones, mientras que las microconideas, transportadas por el viento, funcionan como propágulos de infección 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 humedades de 5 a 35%, y temperaturas de 5 a 10 ° C durante 12 meses. 1,4

Por lo que la infección de este hongo puede ser a partir del germen, de desechos de planta y suelo, así como por conideas transportadas por el viento. El grado de infección es variable, pudiendo desarrollarse asintómicamente, a partir de la semilla, lo cual causa declive de la planta o muerte antes que se produzca el estado reproductivo, o bien se presenta como pudrición de la raíz tallo y mazorca. 16

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 infecta 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 síntomas de infección. 32

Contaminación por *F. moniliforme*.

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, representando el año de cosecha y la localización geográfica un aspecto determinante en su presentación. En 1992 en el sureste de los Estados Unidos las condiciones húmedas y frías favorecieron la invasión de otras especies de *Fusarium*. 1,15, 21

En general se tiene un rango de infección del 8.4 al 36.2% en el maíz aparentemente sano.¹ Sin embargo, en algunos países, como España se ha aislado hasta en un 85.7 %. 24

En fracciones de maíz, se tiene el reporte de altos niveles de contaminación en la harina, germen y salvado de maíz, siendo menor en las hojuelas de maíz, probablemente debido a la localización del hongo en el germen y bajo el pericarpio. 1

En México no ha sido estudiado ampliamente, sin embargo, en una investigación realizada al noreste de la república, se aisló *F. moniliforme* en un 61 %, con capacidad 97 % de producción de fumonisinas en las cepas aisladas, con un rango de 10 a 9,000 ppm, lo que hace suponer que existe un alto nivel de contaminación por el hongo en el maíz. 6

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 existente en el maíz que se cosecha en zonas altamente agrícolas, como Jalisco, siendo éste el objetivo del presente estudio, lo cual permitirá valorar el riesgo de toxicidad existente para de la población que lo consume.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Antecedentes de campo en México, como el rechazo y el bajo consumo de alimento, conversión alimenticia deficiente, elevada morbilidad y mortalidad en los animales, sugieren la presencia de hongos micotoxigénicos en granos almacenados con alto grado de humedad.

Por otra parte, existen numerosas especies de hongos como *F. moniliforme* que contaminan los cereales cuando se presentan condiciones adversas durante el cultivo del maíz los cuales pueden producir toxinas antes, durante o después de la cosecha,

Recientes estudios han demostrado que este hongo, es de distribución mundial, el cual se ha aislado en alto porcentaje en el maíz, y es considerado uno de los hongos de mayor interés por su capacidad de producir micotoxinas como lo son las fumonisinas, de efecto potencialmente tóxico en humanos y animales, por lo que actualmente Organismos Internacionales como la F.A.O. (Organización Mundial para la Administración de Alimentos), y la Agencia Internacional de Investigaciones contra el cáncer, desarrollan numerosas investigaciones sobre el *F. moniliforme* y las fumonisinas.

JUSTIFICACION

El maíz se considera uno de los substratos ideales para el desarrollo de hongos toxigénicos, como *Fusarium moniliforme*, el cual es considerado de gran interés por amplia distribución en cereales y su gran capacidad de producción de fumonisinas, toxinas de actividad promotora de cáncer.

Las fumonisinas B1 y B2 son consideradas responsables de la Leucoencefalomalacia en Equinos y del Edema Pulmonar Porcino, además de atribuirseles efectos hepatotóxicos y nefrotóxicos en otras especies. Estudios epidemiológicos en Transkei Sudáfrica correlacionan a las fumonisinas con la alta incidencia de cáncer esofágico de humanos, por lo que es necesario ampliar el conocimiento sobre la incidencia del hongo y sus toxinas en el maíz en países donde este cereal representa un alimento básico para la población.

El estado de Jalisco ocupa el primer lugar a nivel nacional en cuanto a la producción de maíz, por lo que es importante establecer el nivel de contaminación por *Fusarium moniliforme*, en el maíz cosechado en una localidad del municipio de Jocotepec, zona de alta producción agrícola.

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
BIBLIOTECA CENTRAL

HIPOTESIS

Es posible encontrar elevada contaminación por *Fusarium moniliforme* en el maíz cosechado en el estado de Jalisco, con alta capacidad productiva de fumonisinas, lo que resulta potencialmente tóxico para humanos y animales que lo consumen.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Valorar el nivel de contaminación por *Fusarium moniliforme* en el maíz cosechado en Huejotitán, municipio de Jocotepec, Jalisco.

OBJETIVOS PARTICULARES:

1. Aislar e identificar *F. moniliforme* en maíz blanco.
2. Determinar la correlación entre el daño visual de la mazorca y el número de Unidades Formadoras de Colonias.

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
BIBLIOTECA CENTRAL

MATERIAL Y METODO

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

Obtención de las muestras.

Se procedió a un muestreo aleatorio en 4 parcelas, identificadas como: A B C y D, localizadas en el Ejido de Huejotitán, Mpio. de Jocotepec, Jal. que se encuentra a una latitud norte de 20° 21' 24'', una longitud oeste de 103° 29' 52'' y una altitud de 1552 m.s.n.m., colindando al norte con los ejidos de El Molino y Zapotitán de Hidalgo al Sur y al Este con Zapotitán de Hidalgo y al Oeste con el ejido de San Marcos, (Anexo 1).

De cada parcela, ubicadas en un radio aproximado de 3 km de la zona urbana se obtuvieron 5 unidades (mazorcas), una vez que alcanzaron la madurez final y el mínimo de humedad, posteriormente se depositaron en bolsas de papel, previa identificación y se trasladaron al laboratorio para su análisis.

Cada mazorca se clasificó de acuerdo al daño visual, según Dolezal 22 y posteriormente se desgranó para el análisis. (Anexo 2)

Aislamiento en medio selectivo de Nash y Sneider (NS)

Preparación del medio selectivo de NS:

Contiene : 15.0 g Difco peptona
1.0 g KH₂PO₄
0.5 g Mg SO₄
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 esteriliza en autoclave a 15 lb. durante 20 minutos, posteriormente se le agregan 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. 14

Para la realización de la siembra 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 en :

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 2do. 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 0.1 ml de cada dilución sobre el medio selectivo de Nash-Sneider (caja de petri) y dispersar el líquido con una varilla de vidrio previamente esterilizada .s Preparar 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.

Identificación de *F. moniliforme*.

Para este propósito se procedió a partir de las colonias aisladas en el medio selectivo, las cuales se seleccionaron por sus características de crecimiento y fueron sembradas en Agar Papa Dextrosa, en Agar agua (KCl) y se realizó el Microcultivo.

Preparación de los medios:

Agar Papa Dextrosa: 39 g por litro de agua destilada.

Agar agua (KCl): 5 g de KCl, 15 g de Agar por litro de agua destilada.

Siembra en Agar Papa Dextrosa (A.P.D.): Se Incubó 8 días a una temperatura de 25 °C y procedió a identificar las características de crecimiento de la colonia según la Técnica descrita por Nelson ¹⁴

Siembra en Agar agua (KCl): Se Incubó de 5-8 días a una temperatura de 25 °C y observó 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 colocó sobre un portaobjetos.

Microcultivo: Técnica descrita en Anexo 3

Análisis Estadístico.

Para el análisis estadístico de las UFC fué necesario la transformación numérica de los datos a valores logarítmicos, ya que los primeros no cumplieron el supuesto de normalidad para lo cual se utilizó la prueba de homogeneidad de varianzas y se aplicó la prueba de t Student.

RESULTADOS

Según la clasificación del daño visual de la mazorca, del total de las muestras (20 mazorcas) el 70% obtuvieron la calificación de 9 (0 - 2% de daño), el 25% la calificación de 5 (10 - 25% de daño) y el 5% restante de 3 (25 - 50% de daño), correspondiendo la mayoría de las mazorcas dañadas a la parcela D (Cuadro 1).

No se observó relación entre el daño visual de la mazorca y el desarrollo de UFC, a pesar de que la diferencia entre las medias es marcada ya que en el grupo con < 2% de daño fué de 24,378 UFC/g y el de > de 2 % fué de 237,000 UFC/g; sin embargo se debe mencionar que dado el amplio rango de los valores, la mediana (51.000 UFC/g) del grupo con mayor daño visual fué semejante a la media del primer grupo (Cuadro 2).

El desarrollo de UFC en el medio selectivo de N-S, fluctuó entre los 300 y 90 000 UFC/g en las muestras que tuvieron daño < al 2% y de 5 000 a 1 160 000 UFC/g en aquellas con un daño > al 2 % (Cuadro 3)

La identificación y el aislamiento del *F. moniliforme* en las muestras de maíz fué posible mediante la observación de las características del crecimiento de las colonias en Agar Papa Dextrosa así como por la formación de las cadenas típicas de microconideas observadas microscópicamente (Anexo 4).

También fué posible el aislamiento e identificación de otros géneros de hongos, los cuales se encontraron en menor proporción, principalmente del género *Aspergillus* y *Penicillium* sin identificar la especie.

El crecimiento de colonias de hongos en el medio selectivo permite observar sus características particulares lo cual facilita la diferenciación de las especies de *Fusarium*. La presencia de colonias con micelio algodonoso, ligeramente rosas y de aspecto opaco coincidió con el aislamiento del *F. moniliforme*, el cual se encontró en el 80% de las muestras (Cuadro 3).

Cuadro 1

CLASIFICACION DEL DAÑO VISUAL DE LA MAZORCA

CALIFICACION	DAÑO (%)	N	PORCENTAJE
9	0 a 2	14	70
5	10 a 25	5	25
3	25 a 50	1	5

N = Número de mazorcas

Cuadro 2

RANGO DE UFC/g DE MUESTRA

DAÑO EN MAZORCA	RANGO UFC/g	\bar{x}	Md
< 2%	300 - 90 000	24 378	5 500
> 2%	5 000 - 1 160 000	237 000	51 000

\bar{x} = promedio
Md = mediana

Cuadro 3

DESARROLLO DE UFC EN MEDIO SELECTIVO DE NASH Y SNEIDER

NUMERO DE MUESTRA	CARACTERÍSTICAS DE LAS COLONIAS							UFC/g
	DAÑO < 2	Fm	B/A	B/C	B/R	B/P	N	
1	+	+	+	-	-	+	-	7 000
2	+	+	+	-	-	-	-	2 000
3	+	+	-	+	+	-	-	4 000
5	+	+	-	-	+	-	+	35 000
6	+	+	-	-	+	-	+	20 000
7	+	+	-	-	-	-	+	18 000
9	+	+	+	-	-	-	-	300
10	+	+	+	-	+	-	-	1 000
11	+	+	+	+	-	+	+	1 000
12	+	+	-	-	-	-	-	80 000
13	+	+	+	-	-	+	+	1 000
14	-	-	+	+	-	-	-	80 000
15	-	-	+	+	-	-	-	2 000
17	+	-	-	-	-	-	+	90 000
DAÑO > 2 %								
4	-	-	+	+	+	-	-	147 000
8	-	-	+	+	+	-	+	8 000
16	+	+	-	-	-	-	+	90 000
18	+	+	+	-	-	+	+	1 160 000
19	+	+	-	-	-	-	+	12 000
20	+	+	+	-	-	+	+	5 000

Fm: *Fusarium moniliforme*

B/A: colonias con micelio blanco algodonoso, de coloración rosa a púrpura.

B/C: colonias blanco compactas, escaso micelio.

B/R: colonias blanco rugosas, de pigmentación ligeramente verde.

B/P: colonias púrpura rugosas

N: colonias negras.

B: colonias bacteriana

DISCUSION

El mayor porcentaje de las mazorcas (70%) presentó un daño poco aparente, lo que indica que bajo condiciones adecuadas de cultivo es posible obtener altos rendimientos de maíz sano como se obtuvo en las parcelas A, B y C, que fueron cosechadas en la 2da. semana de diciembre de 1995, mientras que en la parcela D, cosechadas un mes después debido a que se presentaron lluvias en la zona, mostraron un daño visual entre 10 y 25 % , lo que coincide con lo reportado en estudios previos, donde se relacionan los factores ambientales estresantes, como la sequía, inundaciones y granizadas con el daño de la planta de maíz y la contaminación con hongos. 11,15

La calificación del daño visual de las mazorcas no es una medición altamente confiable debido a la subjetividad del método, sin embargo, puede orientar en las medidas de prevención necesarias para evitar la producción de micotoxinas durante la cosecha y el almacenamiento.

Debido al reducido número de muestras por parcela, así como por el amplio rango de los valores obtenidos no fué posible establecer una correlación estadística entre el daño visual de la mazorca y el número de UFC, sin embargo fué posible observar mayor número de UFC en las muestras de mayor daño visual sin mostrar diferencia significativa ($p > 0.05$) mediante la comparación de medias con *t* de Student.

Estudios realizados por Rodríguez 22, reportan una correlación significativa entre el daño visual de la mazorca y el número de UFC, en dicho estudio la correlación fué positiva en la localidad A (Tlajomulco de Zuñiga, Jal.), lo que indicó a mayor calificación (mazorca más sana) mayor número de colonias desarrolladas, mientras que en la localidad B (San Juan del Valle, Nay.) fué negativa; pudiendo deberse a las condiciones ambientales de cada localidad. 22

Katta estudió el contenido de especies de *Fusarium* en fracciones de maíz para consumo humano, encontrándose un rango de infección del 10 al 28%, además de observarse la mayor cantidad de UFC en las fracciones del germen y salvado (16,000 y 64,000 UFC/g respectivamente). El maíz hojueleado presentó la menor cantidad (<100 UFC/g), estos resultados indican una localización principal del organismo en el área del germen bajo el pericarpio 3, lo que explica el porqué cereales de maíz hojueleado han estado consistentemente libres de fumonisinas.

El daño visual y el grado de infección del maíz no es determinante en el desarrollo de UFC/g, puesto que se pudo observar en el presente estudio que mazorcas con calificación de 3 (25 - 50% de daño) desarrollaron cuentas bajas de colonias (8,000 UFC/g), mientras que otras con daño visual menor de 25% tuvieron cuentas hasta de 1'160,000, lo que coincide con lo reportado por Katta en 1994. 3

En Nebraska, USA en 1991 se encontró alto porcentaje de *F. moniliforme*, siendo la principal especie en el maíz amarillo durante esa cosecha, mientras que en España se aisló en un 85.7 % de los cereales analizados 15, 24, sin embargo existen reportes donde se han aislado en mayor porcentaje otras especies de *Fusarium* en diferentes épocas de cosecha, lo que indica que el año y la localización geográfica tienen un notable efecto sobre las especies de hongos que pueden presentarse en el maíz. 15

En el presente estudio se observó crecimiento de diferentes géneros de hongos, así como bacterias en el medio selectivo de N-S para crecimiento de especies de *Fusarium*, siendo en ocasiones tan abundantes que dificultaron la cuenta de colonias y contaminaron los medios de identificación de la especie, coincidiendo con lo publicado por Rodríguez 22, por lo tanto, es importante eliminar las cajas con medio selectivo donde aparezcan géneros de hongos contaminantes, así como colonias bacterianas con el propósito de un aislamiento de cepas puras de *Fusarium* lo que evitará confusiones en la identificación de la especie.

El aislamiento de *F. moniliforme* y el grado de infección en el maíz dependen de diversos factores, destacando los geográficos, estacionales, de cultivo, cosecha y almacenamiento; por lo que al encontrar alto porcentaje de maíz contaminado con *F. moniliforme* se deben desarrollar nuevas investigaciones con el propósito de evaluar los niveles de producción de sus metabolitos tóxicos, como las fumonisinas, potencialmente carcinogénicas y de alto grado de recuperación en alimentos a base de maíz.

CONCLUSIONES

1. El 70% de las mazorcas analizadas mostraron un daño visual menor al 2% según Dolezal.
2. No se encontró diferencia estadística en el desarrollo de UFC/g de muestra entre grupos (< de 2% y > de 2% de daño visual de la mazorca).
3. Se encontró *Fusarium moniliforme* en el 80% de las mazorcas.
4. Es importante realizar pruebas de correlación entre el daño visual de la mazorca y el desarrollo de UFC/g de muestra considerando un mismo número de muestras con y sin daño.

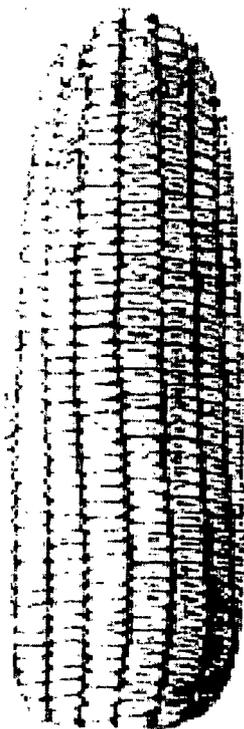
ANEXO 1

LOCALIZACIÓN GEOGRAFICA DEL AREA MUESTREADA

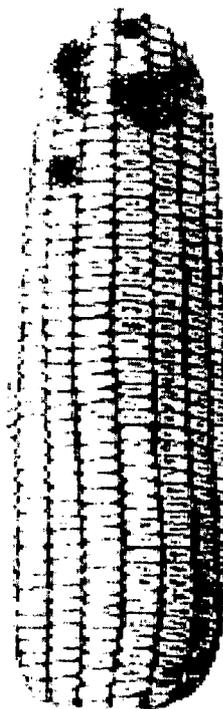


CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
BIBLIOTECA CENTRAL

ANEXO 2

CLASIFICACION DEL DAÑO VISUAL DE LA MAZORCA
SEGÚN DOLEZAL

Mazorca sin daño
visual



Daño de 0 A 2%
CALIFICACION 9



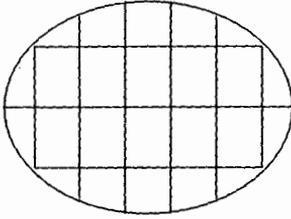
Daño de 10 A 25%
CALIFICACION 5



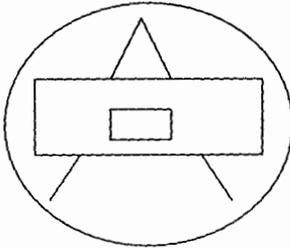
Daño del 25 AL 50%
CALIFICACION 3

ANEXO 3

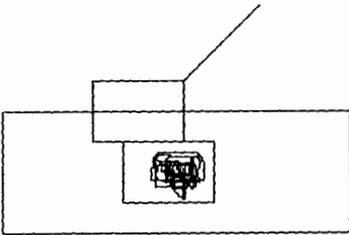
TECNICA Y TINCION PARA EL MICROCULTIVO



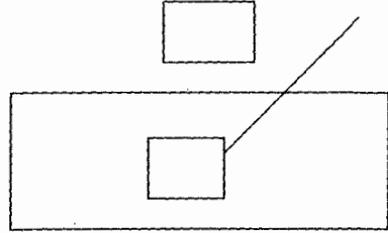
1) Preparar Medio base de agar papa dextrosa (cortar en cuadros)



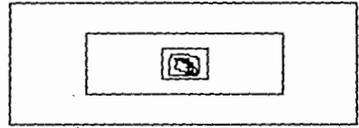
2) Colocar en una caja de petri una varillade vidrio doblado sobre una gasa, además de un portaobjetos y cubreobjeto (esterilizar).



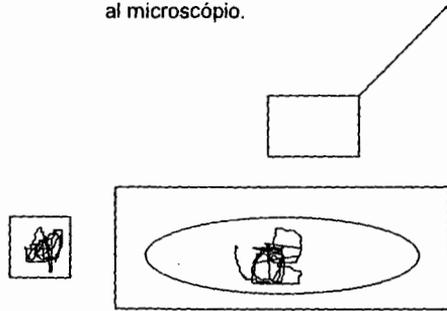
4.1) Se retira el cubreobjeto y el medio de agar y sobre el crecimiento del hongo en el portaobjetos se tiñe con azul de Lactofenol.



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 para su observación al microscópio.

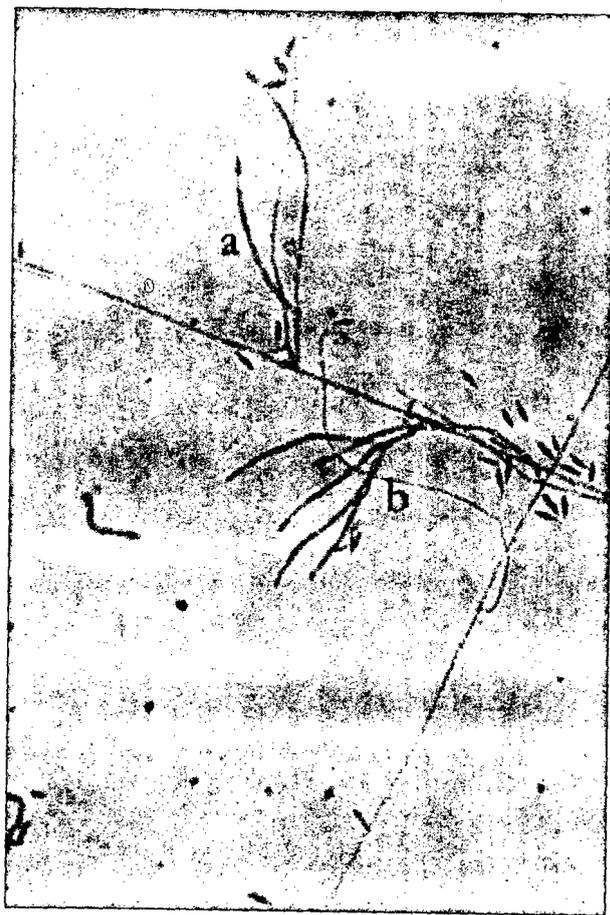


4.2) Se procede de la misma manera con el cubreobjeto y se observan al microscópio.

ANEXO 4



FOTOGRAFIA 1: a) Cadena de *F. moniliforme*,
b) Microconidias en micelio aéreo (X40)



FOTOGRAFIA 2 : a) Monofialide sin ramificación,
b) Monofialide ramificada de *F. moniliforme* (X40)

BIBLIOGRAFIA

1. **Bacon Ch.W. y Nelson P.E.** 1994. Fumonisin Production in corn by toxigenic strains of *Fusarium moniliforme* and *F. proliferatum*. J. Food Prot. 57(6): 514-521.
2. **Bartolini R.** 1990. El maíz. Edit. Mundi Prensa. Madrid, España. pp 1-15
3. **Bullerman LL. B. y Tsai W.J.** 1994. Incidence and levels of *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and Fumonisin in corn and corn-based foods and feeds. J. Food Prot. 57(6): 451-546.
4. **Bullerman LL. B. Y Draughon F.A.** 1994 Fusarium moniliforme and Fumonisin Symposium. J. Food Prot. 57 (6): 513
5. **Chu F.S. y Guo Y. L.** 1994 Simultaneous Occurrence of fumonisin B, and other mycotoxins in moldy corn collected from the people's Republic of China in regions with high incidences of esophageal cancer. Appl. Environ Microbiol 60 (3): 847-852
6. **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
7. **Edrington T. S. Kamps-Holtzapfle C. A., Harvey R. B., Kubena L. F., Elissalde M. H y Rottinghaus G. E.** 1995 Acute Hepatic and Renal Toxicity in lambs dosed with fumonisin containing culture material. J. Anim Sci. 73: 508-515
8. **Fernandez E.E.** 1981 Microbiología Sanitaria. Vol.1 Cuenta de colonias por inoculación en superficie. Cap. 4 EDUG/UdeG. pp. 147-156

9. **Garcia T. M.** 1994 Confirmación química y estudio epizootiológico de fumonisina B1 (FB1) en maíz de Oaxaca causante de Leucoencefalomalacia Equina. Tesis de Licenciatura de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.
10. **Gelderblom W.C.A. y tol.** 1988 Fumonisin-novel micotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. Appl. Environ. Microbiol. 54 (7): 1806-1811.
11. **Gonzalez A. V.** 1995 EL MAIZ y su conservación Ed. trillas México. pp 214-251
12. **Hopmans E. C. y Murphy A. P.** 1993. Detection of Fumonisin B1, B2 y B3 and Hydrolyzed Fumonisin B1 in corn-containing Foods. J. Agric. Food Chem. 41(10): 1655-1658.
13. **Murphy A.P., Rice L. G., y Ross P.F.** 1993 Fumonisin B1, B2 and B3 content of Iowa, Wisconsin, and Illinois corn and corn screenings. J. Agric. Food Chem. 41(2): 236-266.
14. **Nelson P. E., Toussoun T. A. y Marasas W. F. O.** 1983 *Fusarium* Species and Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press, University Park and London.
15. **Nelson P. E., Plattner R. D., Shackelford D.D. y Desjardins A. E.** 1991 Production of Fumonisin by *Fusarium moniliforme* Strains from various substrates and Geographic Areas Appl. Environ. Microbiol. 57(8): 2410-2412.
16. **Nelson P. E.,** 1992, Fumonisin B1 Production by *Fusarium* Species other than *F. moniliforme* in Section Liseola and by some related Species. Appl. Environ. Microbiol. 58 (3): 948-989.
17. **Nelson P. E., Dignani M. C., y Anaisie E. J.** 1994, Taxonomy, Biology and Clinical Aspects of *Fusarium* Species. Clin. Microbiol. Rev. 7(4): 479-504.

18. **Norred W. P. y Voss K. A.** 1994 Toxicity and role of Fumonisin in Animal Diseases and Human Esophageal Cancer J. Food Protection 57 (6): 522-527.

19. **Osweiler G. D., Ross P. F., Wilson T.M., Nelson P. E., Witte S.T., Carson T. L., Rice L. G. y Nelson H. A.** 1992 Characterization of an Epizootic of Pulmonary edema in Swine Associated with Fumonisin in corn screenings. J. Vet. Diagn. Invest. 4: 53-59.

20. **Qureshi M. A. y Hagler W. M.** 1992 Effect of Fumonisin B1 Exposure on Chicken Macrophage Functions in Vitro Poultry Sci. 71 : 104-112.

21. **Riley R. T., Norred W. P. y Bacon Ch. W.** 1993 Fungal Toxins in Foods Recent concerns. Annv. Rev. Nutr. 13 : 167-189.

22. **Rodriguez S. R. S.** 1994. Estudio Preliminar de correlaciones entre Desarrollo de Colonias de *Fusarium moniliforme* In-Vitro, escala visual del Daño en Mazorca y Contenido de Fumonisin, en el Cultivo de Maíz (*Zea mayz L.*), Tesis de Lic. Ing. Agrícola de U.A.G.

23. **Ross P. F., Nelson P. E., Richard J. L. , Osweiler G. D., Rice L. G., Platter R.D y Wilson M.** 1990 Production of Fumonisin by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates associated with Equine Leucoencephalomalacia and a Pulmonary Edema Syndrome in Swine. Appl. Environ. Microbiol. 56 (10): 3225-3226.

24. **Sala N., Sanchis V. Vilaro P., Viladrich R., Torres M., Viñas I. y Canela R.** 1994 Fumonisin Producing Capacity of Fusarium Strains Isolated from Cereals in Spain. J. Food Protection , 57 (10): 915-917.

25. **Santamaria F.I.** 1994 Micotoxigenicidad de Hongos *Aspergillus flavus* y *Fusarium moniliforme* aislados de Alimento Comercial para Conejos. Tesis de Lic. de Médico Veterinario y Zootecnista de la U. N. A. M.

26. **Shurtloff M.C.** 1980 Compendio de Enfermedades del Maíz. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.
27. **Sydenham E.W., Thiel P. G., Marasas W. F. O., Shephard G. S., Van Scharlkwyk D. J. V. y Koch K. R.** 1990 Natural Occurrence of some *Fusarium* Mycotoxins in corn from Low and High Esophageal Cancer Prevalence Areas of the Transkei, Southern Africa J. Agric. Food Chem. 38 : 1900-1903.
28. **Sydenham E. W., Gelderblom W. C. A., Thiel P. G. y Marasas W. F. O.** 1990. Evidence for the Natural occurrence of Fumonisin B1 a Mycotoxin Produced by *Fusarium moniliforme* in corn .J. Agric. Food Chem. 38 (1): 285-290.
29. **Sydenham E.W., Shephard G. S., Thiel P.G., Marasas W. F.O. y Stockenstrom S.** 1991 Fumonisin Contamination of Comercial corn-Based Human Foodstuffs. J.Agric. Food Chem. 39 (11) : 2014-2018.
30. **Sydenham E.W., Marasas N. F. O., Shephard G. S., Thiel P. G. y Hirooka.** 1992. Fumonisin Concentrations in Brazilian Feed Associated with Field Outbreaks of Confirmed and suspected Animal Micotoxicoses. J. Agric. Food Chem. 40(6) :994-997.
31. **Thiel P. G. Shephard G. S., Sydenham E. W., Marasas W. F. O., Nelson P.E. y Wilson T. M.** 1991. Levels of Fumonisins B1 and B2 in Feeds Associated with Confirmed Cases of Equine Leucoencephalomalacia. J. Agric. Food Chem. 39 : 109-111.
32. **Thiel P.G., Marasas W. F. O., Sydenham E. W., Shephard G. S., Gelderblom W. C. A. y Nievwenhuis J. J.** 1991. Survey of Fumonisin Production by *Fusarium* Species Appl. Environ Microbiol. 57 (4): 1089-1093.
33. **Yoshizawa T., Yamashita A. y Luo Y.** 1994. Fumonisin Occurrence in corn from High-and Low-Risk Areas for Human Esophageal Cancer in China. Appl. Environ. Microbiol. 60 (5) : 1626-1629.