

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



IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CEPAS DE *Fusarium* spp
PRODUCTORAS DE ZEARALENONA EN MAÍZ ALMACENADO
DESTINADO PARA LA ALIMENTACIÓN DE CERDOS.

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA
P R E S E N T A

EDUARDO HERNÁNDEZ OROZCO

DIRECTOR DE TESIS :

M. en C. MARGARITA HERNANDEZ GALLARDO

ASESOR DE TESIS :

DR. AGUSTÍN RAMÍREZ ALVAREZ

LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO; NOVIEMBRE DE 1995.

AGRADEZCO A DIOS

POR SU BONDAD, AMOR Y GRAN MISERICORDIA,
QUE SIEMPRE HA SABIDO DARMME A MI Y A
LOS MÍOS, YA QUE ME HA PERMITIDO TERMINAR
UNA DE LAS ETAPAS IMPORTANTES DE MI VIDA.

GRACIAS ADEMÁS POR DARMME LA
ALEGRÍA DE VIVIR Y DE ESTAR RODEADO
DE TODAS LAS MARAVILLAS CREADAS.

"GRACIAS SEÑOR POR SER MI DIOS "

A DOS SERES CUYA MISIÓN FUE FORMAR A CADA UNO
DE LOS DOS HIJOS QUE EL CREADOR LES DIO Y QUE,
AHORA VEN CULMINADA UNA DE LAS ETAPAS DE LA
VIDA DE UNO DE ELLOS, GRACIAS A SUS DESVELOS,
PREOCUPACIONES Y ESFUERZOS, YA QUE NUNCA LES FALTO
CARIÑO Y MANO FUERTE PARA SABERME GUIAR.

COMO MUESTRA DE AGRADECIMIENTO A UDS.
QUE CON SACRIFICIOS DEDICACIÓN, Y EL DESEO
DE MI FORMACIÓN; SUPIERON DIRJIRME Y
AYUDARME HASTA HACERME ALCANZAR ESTE OBJETIVO
YA FIJADO EN ESTA ETAPA DE MI VIDA:

" SER MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA "

A ELLOS MIS PADRES POR
HABERME ENSEÑADO A
AMAR LA VIDA Y A VIVIRLA

" MUCHAS GRACIAS "

A MI HERMANO, QUIEN CON SU APOYO, COMPRESIÓN Y EJEMPLO, ME HA AYUDADO A LO LARGO DE TODA LA REALIZACIÓN DE MIS ESTUDIOS; EXORTÁNDOLO A SEGUIR ADELANTE Y CON ÉXITO SU VIDA PROFESIONAL.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS, CON QUIENES COMPARTÍ MOMENTOS INOLVIDABLES Y GRATOS RECUERDOS A TRAVEZ DE MI FORMACIÓN ACADÉMICA, GRACIAS POR LA CONFIANZA Y APOYO QUE ME BRINDARON; YA QUE CON SUS BROMAS Y CAMADERIA HICIERON DE MI ETAPA DE ESTUDIANTE UNA DE LAS MEJORES DE MI VIDA

A TODOS ELLOS LES DESEO LOGREN ÉXITO EN EL EJERCICIO DE SU PROFESIÓN, ASÍ COMO EN SU CONSTANTE LUCHA EN LA BÚSQUEDA DE LA SUPERACIÓN PROFESIONAL Y PERSONAL.

POR SU GRAN CALIDAD HUMANA, CON INFINITA ADMIRACIÓN, AGRADECIMIENTO Y AFECTO A LA M. V. Z. MARÍA GUADALUPE NEGRETE FIGUEROA

A LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA, Y EN ESPECIAL A LA DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS QUE GENEROSAMENTE ABREN SUS PUERTAS PARA QUE MUCHOS JÓVENES AL IGUAL QUE YO, TENGAMOS LA OPORTUNIDAD DE LLEVAR A CABO NUESTRA FORMACIÓN ACADÉMICA SUPERIOR.

DE MANERA MUY ESPECIAL, EN RECONOCIMIENTO A LA DESINTERESADA Y VALIOSA AYUDA EN LA ELABORACIÓN DE ESTA TESIS PROFESIONAL Y QUE GRACIAS A SU DIRECCIÓN, FUE POSIBLE LA CULMINACIÓN DE UN ESFUERZO INICIADO CON MUCHO INTERÉS, Y ASÍ VER HECHA REALIDAD LA ILUSIÓN, DE LLEGAR A SER UN PROFESIONISTA TITULADO, ADQUIRIENDO COMPROMISOS Y RESPONSABILIDADES.

GRACIAS INFINITAS POR LOS MINUTOS DEDICADOS A ESTA OBRA EN LA CORRECCIÓN, AMPLIACIÓN Y PERFECCIÓN, DANDO COMO RESULTADO FINAL, UN TRABAJO DIGNO DE SER PRESENTADO, Y QUE PERMITIRÁ CONTINUAR CON LAS SIGUIENTES ETAPAS QUE SON PARTE IMPORTANTE EN LA FORMACIÓN PROFESIONAL DEL MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

SINCERAMENTE MUCHAS GRACIAS

M. EN C. MARGARITA HERNÁNDEZ GALLARDO

CON EL RECONOCIMIENTO DE SU GRAN CAPACIDAD PROFESIONAL Y ESPECIAL AGRADECIMIENTO AL DR. AGUSTÍN RAMÍREZ ALVAREZ, MAESTRO, AMIGO Y ASESOR DE ESTA TESIS PROFESIONAL.

CON TODA MI ADMIRACIÓN, RESPETO Y GRATITUD.

A MI HONORABLE JURADO

QUIENES AL REVISAR EL PRESENTE
TRABAJO Y APORTANDO SU VALIOSA EXPERIENCIA
AYUDARON A SU PRESENTACIÓN SATISFACTORIA, POR
SU APOYO DESINTERESADO, MI ADMIRACIÓN Y RESPETO;
QUE DA FIN Y PRINCIPIO A UNA NUEVA RUTA DE MI VIDA

A MIS VERDADEROS MAESTROS, AGRADECIENDO,
SUS CONOCIMIENTOS, DEDICACIÓN Y PACIENCIA, YA
QUE ELLOS HACEN POSIBLE LA FORMACIÓN DE PERSONAS
ÚTILES A LA SOCIEDAD, CONTRIBUYENDO ASÍ
AL ENGRANDECIMIENTO DE LA MEDICINA VETERINARIA.

"MUCHAS GRACIAS"

A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE DE
ALGUNA U OTRA FORMA ME ALENTARON A LO
LARGO DE MIS ESTUDIOS Y HAN CONTRIBUIDO
A LO LARGO DE TODA MI FORMACIÓN

! MIL GRACIAS !

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	X
INTRODUCCIÓN.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	8
JUSTIFICACIÓN.....	9
HIPOTESIS.....	11
OBJETIVOS.....	12
MATERIAL Y MÉTODO.....	13
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN.....	25
CONCLUSIONES.....	30
BIBLIOGRAFÍA.....	31

RESUMEN

La gran mayoría de los productos agrícolas son invadidos por diversos microorganismos durante su desarrollo en el campo, siendo los hongos los más abundantes y la principal causa de enfermedades, ocasionando severas pérdidas económicas al reducir el potencial de producción. Este trabajo se realizó con el objeto de identificar y cuantificar las cepas de *Fusarium* spp. productoras potenciales de zearalenona en maíz almacenado destinado para la alimentación de cerdos, el cual se desarrolló en el Departamento de Salud Pública de la División de Ciencias Veterinarias del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara; se procesaron 80 muestras de maíz estas provenientes de dos regiones de Jalisco, (Ameca y Atoyac). La metodología utilizada para la identificación y cuantificación de cepas fúngicas fue la técnica de vaciado en placa, utilizando agar dextrosa y papa. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: La humedad fluctuó en un rango de 2.03 % a 12.34 %, se aislaron un total de 320 cepas correspondientes a los siguientes géneros; *Fusarium* spp. 49.69 % , *Penicillium* spp. 27.2 % , *Aspergillus* spp. 15.3 % , *Alternaria* spp. 2.8 % , *Epicoccum* spp. 2.5%, *Cladosporium* spp. 1.25 % , *Diplodia* spp. 0.62 % y *Escopulariopsis* spp. 0.62 % y obteniendo recuentos de unidades formadoras de colonias / gramo de; recuentos bajos 50 % , recuentos moderados 45 % y recuentos nulos 5 % . Se concluye que de las 320 cepas aisladas e identificadas en el maíz 159 correspondieron al género de *Fusarium* spp..

INTRODUCCIÓN

En la actualidad uno de los retos prioritarios a nivel Mundial, es la producción de alimentos libres de contaminantes, el hombre utiliza como principal componente de su alimentación a los granos y sus derivados. Así se tiene que en los países en vías de desarrollo, alrededor de 85 % de la alimentación depende de los productos agrícolas. En cambio en los países desarrollados el 40 % de la alimentación proviene de los productos agrícolas. En términos generales se considera que la dieta del hombre, a nivel Mundial, está constituida en un 70 % por productos de origen animal. (20)

En relación a esto último, hay que tener en cuenta que los alimentos de origen pecuario son producidos mediante la alimentación de los animales con granos y concentrados proteínicos.(20)

La gran mayoría de los productos agrícolas son invadidos por diversos microorganismos durante su desarrollo en el campo, siendo los hongos los más abundantes y la principal causa de enfermedades, ocasionando severas pérdidas económicas al reducir el potencial de producción. (19)

En particular los granos y las semillas son invadidos por diversos hongos en el almacén, la bodega, el silo, y las trojes, siendo principalmente especies de: Aspergillus y Penicillium. Por otra parte, también los granos y las semillas son invadidos por hongos, cuyo hábitat natural no es el almacén, sino el campo ejemplo de estos son: Alternaria, Cladosporium, Helminthosporium, Fusarium y otros que causan enfermedades a las plantas y que son transmitidos de un ciclo a otro a través de las semillas. (19)

La principal diferencia entre los "hongos de campo" y los "hongos de almacén" son los requerimientos de agua para crecer. Los hongos de campo requieren humedades relativas de 90 a 100 %, en cambio los de almacén pueden crecer en humedades relativas de 65 a 90 %, condiciones que se presentan muy frecuentemente en el almacenamiento de granos. (19)

A veces el desarrollo de hongos en los alimentos sólo trae como consecuencia un simple cambio en el aspecto organoléptico del producto. Sin embargo, en ocasiones, también suele alterarse el valor nutricional debido al evidente consumo que hacen los mismos de los elementos nutritivos. Si se le suministra a los animales piensos fabricados con materias primas de mala calidad sanitaria, ello origina una reducción del rendimiento de los animales y una producción animal no rentable, además de un alimento de mala calidad (contaminado). (6)

Los factores generales para el desarrollo y crecimiento de los hongos, son los siguientes:

- Humedad superior al 14 %
 - Temperatura mayor de 25 ° C
 - Periodo de almacenamiento de más de 15 días
 - Grado de invasión antes de llegar a la bodega
 - Actividad de insectos o agentes deteriorantes del grano
- (8,19,38)

Por lo tanto, al darse estas condiciones, que son adecuadas para la proliferación de hongos, se presenta la sustancia tóxica llamada micotoxina, ésta se utiliza para describir un veneno o tóxico procedente de los "mikes" u hongos, y es un metabolito que produce cambios patológicos en el individuo que la ingiere.

(19,26)

Existen alrededor de 100 especies diferentes de hongos productores de sustancias tóxicas y por lo menos 13 de estas sustancias se asocian íntimamente con aquellas enfermedades que afectan a los animales domésticos.(11, 17)

De entre las especies domésticas, cabe señalar, que los porcinos son los más susceptibles a la zearalenona, sobre todo cuando su peso fluctúa entre los 18 - 20 Kg. o menos. (11, 20)

En el porcino se mencionan como intoxicaciones o micotoxicosis importantes las siguientes:

- Aflatoxicosis
- Ergotismo
- Fusariotoxicosis (8)

Los hongos tienen una influencia directa sobre la Salud Pública; algunos son altamente benéficos y el hombre los utiliza directamente, en la producción de antibióticos. Otros juegan un papel importante en la naturaleza como degradadores de materia orgánica y constituyen un grupo de microorganismos de extrema importancia en la porcicultura. Ya que estos son causantes de varias intoxicaciones debidas a la formación de micotoxinas en los alimentos. (10,18,19, 31, 41)

Seguramente las micotoxinas siempre han estado presentes, pero hasta hace unas décadas se les reconoció como un problema de Salud Pública y Animal. En el año de 1962 fue el descubrimiento de la zearalenona.(19)

La importancia de la Salud Pública Veterinaria es incuestionable ya que debemos entender por tal, la aplicación de los conocimientos, métodos y técnicas, y en general, de todos los recursos de la medicina veterinaria para la protección y el mejoramiento de la Salud; para así aumentar y mejorar la producción animal y de los alimentos, preservando la Salud Animal y Humana. (25)

El primer caso conocido de intoxicación por micotoxinas, fue en Europa, durante los días Feudales, "El Ergotismo" o "Fuego de Sn. Antonio", tuvo su origen por la ingestión de centeno u otro grano infectado con "Claviceps purpurea", este hongo invade a la semilla, formando al final un cuerpo café oscuro. Más tarde en 1822 se informó de intoxicaciones por pastura conteniendo pasto poco contaminado con hongos.(24)

La zearalenona es una micotoxina que produce signos de exacerbación de funciones reproductivas, es producida por hongos del género Fusarium y se le ha encontrado asociada con problemas reproductivos en humanos y animales. Es principalmente un contaminante del maíz, pero puede ocurrir en avena, cebada, trigo y sorgo. Estos granos son invadidos por diversos microorganismos reduciendo así su calidad nutricional. El desarrollo de los hongos provoca, niveles bajos en vitaminas de los alimentos, reducen los aminoácidos y además existe una pérdida de energía metabolizable en los granos. En cerdos, la zearalenona es un problema grave en hembras ya que puede provocar abortos y trastornos reproductivos.(2, 7, 9, 15)

Por otra parte, muchas especies de Fusarium desarrollan un color rosado durante su crecimiento sobre el maíz y el trigo. Fusarium roseum , F.graminearum, y F. tricinctum son algunos ejemplos. (40)

Fusarium roseum requiere de una temperatura de 20° a 25° C para tener crecimiento vegetativo vigoroso y para la producción de la toxina zearalenona se requiere de una temperatura de 14° C. (19)

En intoxicaciones crónicas por consumo de micotoxinas en cerdos se presentan los siguientes trastornos; anorexia, pérdida en la ganancia de peso, además de baja en la producción, respuesta inadecuada a la vacunación, así como también elevan la mortalidad en la piara. Sin embargo cuando se ingieren en cantidades considerables, causan diferentes tipos de enfermedades. Y reducen de manera muy considerable la productividad. Estos efectos dependen del tiempo de exposición, dosis, especie, raza, sexo, edad, estado nutricional y susceptibilidad individual. (1, 36, 39)

La micotoxina F2 es un compuesto fenólico, y es conocida también como zearalenona, produce fluorescencia azul brillante en presencia de luz ultravioleta, es una lactona del ácido b resorcilo, (6-10-hidroxi-6-oxotrans-1-undecil). (13, 21, 33, 35)

En Japón, después de la Segunda Guerra Mundial se determinó que la enfermedad del arroz amarillo, es causada por contaminantes del grano con hongos que producen aflatoxinas. Lo anterior los forzó a realizar investigaciones para establecer límites máximos de aflatoxinas y que hacer con el grano contaminado. (24)

Buxton en 1927 asoció por primera vez algunos casos de vulvovaginitis en cerdos alimentados con maíz contaminado con hongos y en estudios posteriores Mc. Nutt et al (1928), Mc. Erlean (1952), Statovic et al (1963), Popović, mencionan la presentación de micotoxinas estrogénicas, producidas por Fusarium (zearalenona).

Nelson et al (1973) alimentaron cerdas gestantes con alimento contaminado con hongos ocasionando abortos y reducción en el número de lechones capaces de sobrevivir. Loncarevic et al (1977) proporcionaron alimento contaminado con Fusarium graminearum a cerdas 15 días antes del parto, y al nacimiento los lechones presentaron síntomas característicos de fusariotoxicosis (edema de la vulva y glándula mamaria), con lo que estos autores demuestran la transmisión transplacentaria de fusariotoxinas al feto.

En México Rosiles y López (1977) mencionan un brote de hiperestrogenismo en porcinos en el estado de Sonora, ocasionado por zearalenona, los signos clínicos que observaron estos autores fueron; en cerdas eritema cutáneo en la región inguinal y perianal acompañado de fiebre, edema de la vulva, prolapso vaginal y aumento de tamaño en las ubres. En los machos no castrados observaron hinchazón del prepucio y escroto además de disminución de la libido. (Citado por Campos, 1989), (7)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La presencia de hongos en maíz almacenado, destinado para la alimentación de cerdos, juega un papel muy importante en la calidad nutricional y sanitaria de éste.

Sin embargo este maíz por el tiempo de almacenamiento, grado de humedad y temperatura en que se almacena (mal manejo), está expuesto a hongos productores de zearalenona que al ser ingerido por cerdos podría producir efectos tóxicos tales como: abortos, vulvovaginitis, micotoxicosis estrogénica, reducción en el número de lechones, edema de la vulva y glándula mamaria, hiperestrogenismo; con signos clínicos como eritema cutáneo en la región inguinal y perianal, acompañada de fiebre, prolapso vaginal y aumento de tamaño en las ubres; en cerdos no castrados se podría observar hinchazón en el prepucio y escroto, además de disminución de la libido etc. Esto no solamente resulta una pérdida económica, sino que también se introducen residuos tóxicos en los productos derivados de ellos, representando con esto un serio problema de Salud Pública.

JUSTIFICACIÓN

A nivel Mundial, la utilización de granos, es de gran importancia, ya que son usados tanto para el consumo humano, como para el consumo animal, tomando en cuenta que gran parte la dieta de cada individuo, está basada en granos y sus derivados.

Es importante hacer mención de que las raciones alimenticias para los animales, son elaboradas, con un alto porcentaje de granos, principalmente, sorgo y maíz.

Estos granos y derivados son invadidos por diversos microorganismos, reduciendo así su calidad nutricional. Cuando los alimentos se ven afectados organolépticamente, comúnmente son desechados y utilizados para el consumo animal; pudiendo los mismos estar expuestos a raciones contaminadas con micotoxinas, cuando esto sucede los animales presentan un proceso de intoxicación progresiva de variables consecuencias.

Dentro del grupo de las micotoxinas, la zearalenona es considerada como una de las más importantes en la industria porcícola por sus efectos tóxicos.

La zearalenona se considera un compuesto estrogénico que en machos induce efectos feminizantes en concentraciones menores a una parte por millón; mayores que estas pueden interferir con las tasas de concepción, ovulación, implantación embrionaria, desarrollo fetal y viabilidad del recién nacido.

Es importante mencionar que existen técnicas para la identificación y cuantificación de cepas fúngicas, potencialmente productoras de zearalenona; y que gracias a esto, es factible el diagnóstico de laboratorio. Por lo que es de gran relevancia determinar el grado de contaminación por *Fusarium* ya que este género puede ocasionar la presencia de zearalenona, que en la producción porcina, además de causar pérdidas económicas, también pueden manifestarse serios problemas en el rubro de la Salud Pública.

Esto hace necesario establecer un sistema de vigilancia para detectar los niveles de contaminación de los alimentos y el estudio e investigación epidemiológica de las enfermedades relacionadas con las micotoxinas en la población humana y animal.

HIPÓTESIS

Si el insuficiente control de calidad en el maíz destinado para la alimentación de cerdos y las deficientes técnicas de almacenamiento hacen que éste se contamine con microorganismos capaces de producir sustancias tóxicas como zearalenona, entonces es posible encontrar un alto porcentaje de alimento contaminado por *Fusarium* de acuerdo al grado de humedad localizado en el almacén.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Identificar y cuantificar las cepas de *Fusarium* spp. productoras potenciales de zearalenona en maíz almacenado destinado para la alimentación de cerdos.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Determinar el grado de humedad presente en el maíz.
- 2.- Cuantificar la carga fúngica en maíz mediante recuentos de unidades formadoras de colonias por gramo (U. F. C. / g.)
- 3.- Identificar la flora micológica más frecuente en maíz destinado para el consumo de los cerdos.

MATERIAL Y MÉTODO

El muestreo se llevó a cabo en granjas de cerdos de las regiones de Ameca y Atoyac.

Se obtuvieron 80 muestras de maíz destinado al consumo de cerdos, estas se tomaron de la bodega, formando muestras compuestas de aproximadamente 2 Kg. c/u .

Se transportaron en bolsas de papel al Área de Micotoxicología perteneciente al Departamento de Salud Pública de la División de Ciencias Veterinarias del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, para la realización de las siguientes determinaciones:

- 1.- Se determinó el grado de humedad. (diagrama No. 1).
- 2.- Se cuantificó e identificó la flora micológica por la técnica de vaciado en placa. (diagrama No. 2).

El tiempo que transcurrió del muestreo al análisis para cuantificar e identificar las cepas fúngicas no fue mayor a las 72 horas.

Los criterios que se utilizaron para identificar las cepas fúngicas productoras de zearalenona se basaron en la observación macroscópica de las colonias y la preparación de frotis húmedos a partir de microcultivos con el fin de determinar las características microscópicas tomando en cuenta:

A) Morfología

- Identificación de hifas
- Identificación de esporas sexuales y asexuales.
- Identificación de estructuras estromáticas.

B) Nutrición y Crecimiento

Para el cultivo se utilizó un sustrato con alto contenido de nutrientes como el agar papa-dextrosa.

Por las características descriptivas del trabajo, no se utilizó ningún método estadístico. (12, 14, 30, 34, 37)

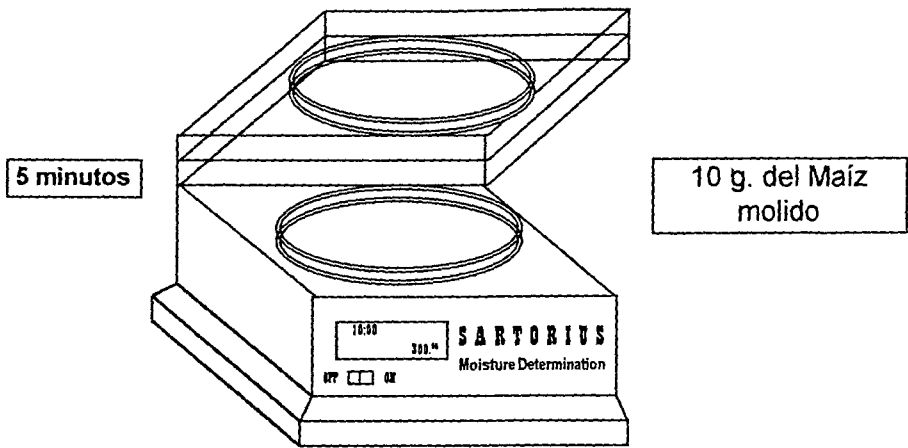
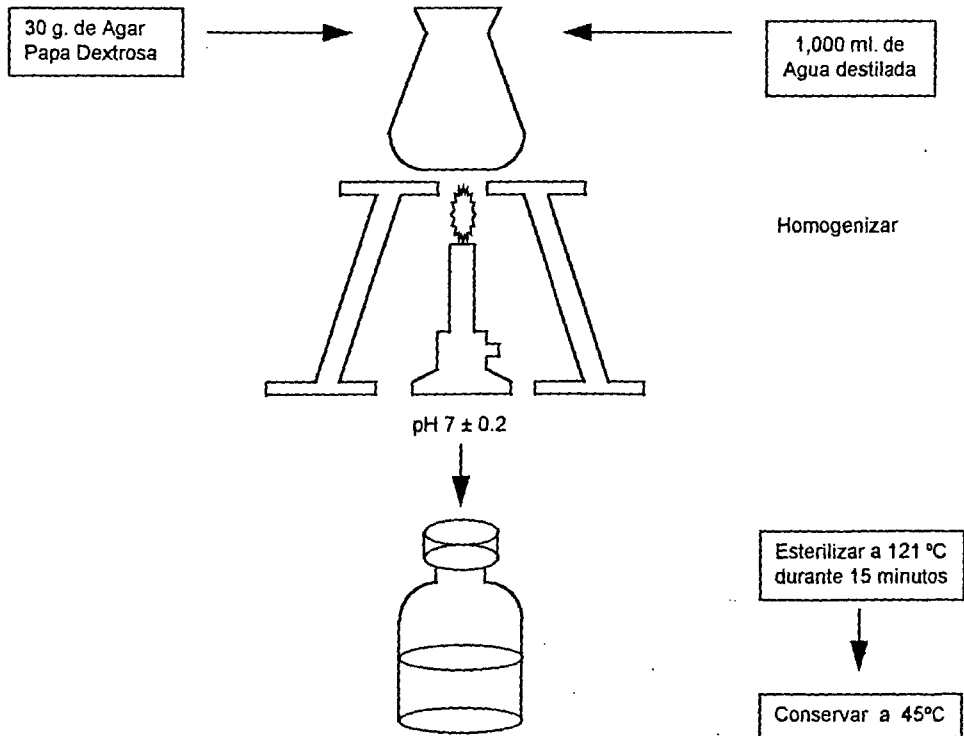


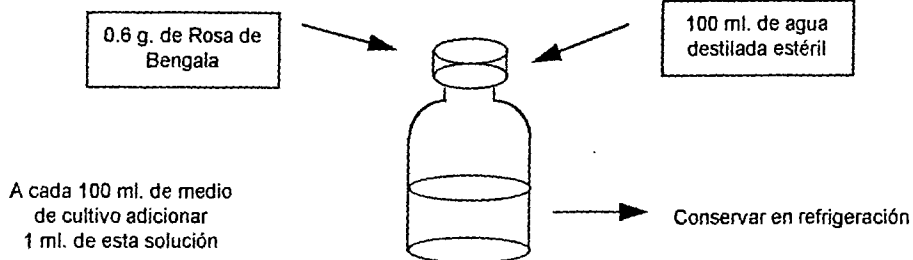
DIAGRAMA No. 2

CUANTIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS POR LA TÉCNICA DE VACIADO EN PLACA.

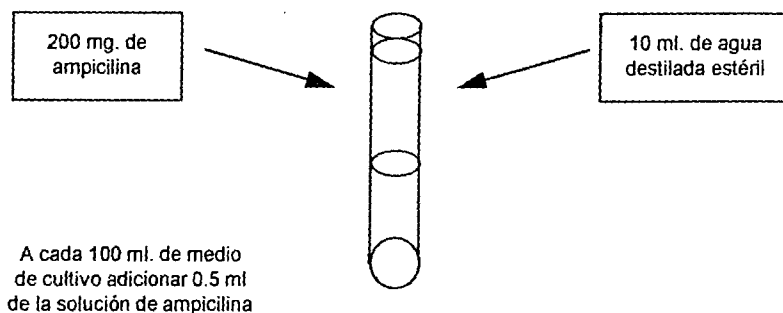
PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO



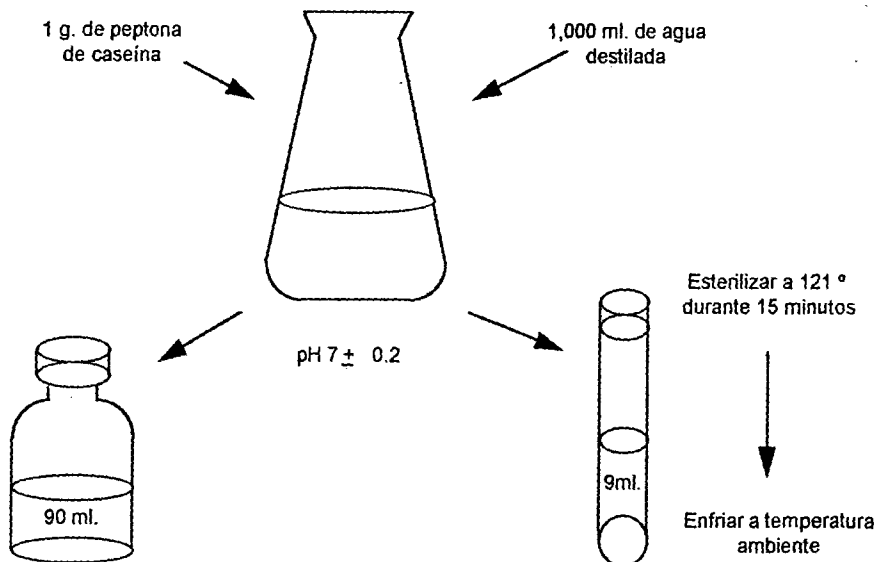
PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE ROSA DE BENGALA



PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE AMPICILINA



PREPARACIÓN DEL DILUENTE DE PEPTONA



RECuento DE HONGOS POR LA TÉCNICA DE VACIADO EN PLACA

10 g. DE
MUESTRA

AGUA
PEPTONADA

90 ml.

1 ml.

1 ml.

1 ml.

9 ml.

9 ml.

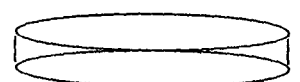
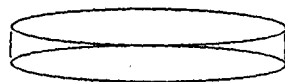
9 ml.

1 ml.

1 ml.

1 ml.

1 ml.



10^{-1}

10^{-2}

10^{-3}

10^{-4}

15 ml. de medio de
cultivo adicionado de
Rosa de Bengala y
Ampicilina

Incubar de 3 a 5 días a 20 °C

INTERPRETACIÓN DE RECUEENTOS DE UNIDADES
FORMADORAS DE COLONIAS

0 ----- RECUEENTOS NULOS

10^2 --- 10^3 ----- RECUEENTOS BAJOS

10^4 --- 10^5 ----- RECUEENTOS MODERADOS

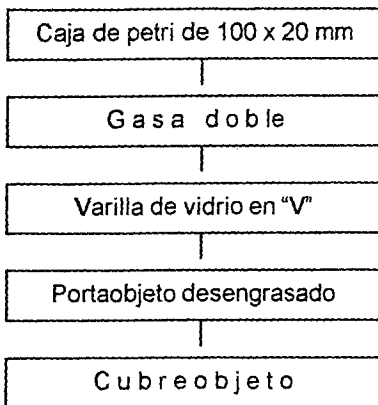
10^6 --- 10^7 ----- RECUEENTOS ALTOS

AISLAMIENTO

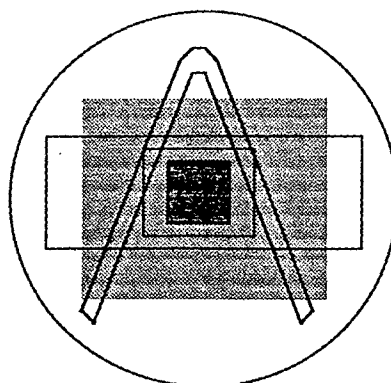
Identificar las cepas
por sus características
macroscópicas

Aislar la cepa en agar
papa dextrosa

Incubar de 3 a 5 días
a 20 °C



Esterilizar a 121 °C durante 15 minutos

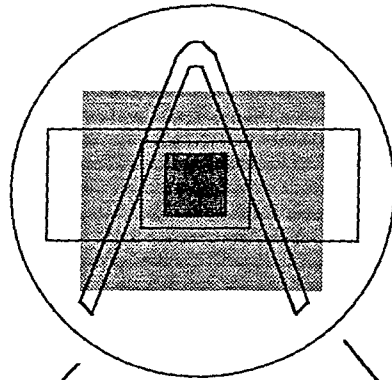


Cuadro de agar papa dextrosa

Inocular con la cepa aislada los cuatro extremos libres del cuadro de agar

10 ml. de agua destilada estéril

Incubar de 3 a 5 días a 20 °C



Desechar el agar

1.- Retirar el cubreobjeto

2.- Retirar el portaobjeto

Colocar una gota de azul de lactofenol

Colocar una gota de azul de lactofenol

Sobreponerle un portaobjeto limpio

Sobreponerle un cubreobjeto limpio

OBSERVAR AL MICROSCOPIO

RESULTADOS

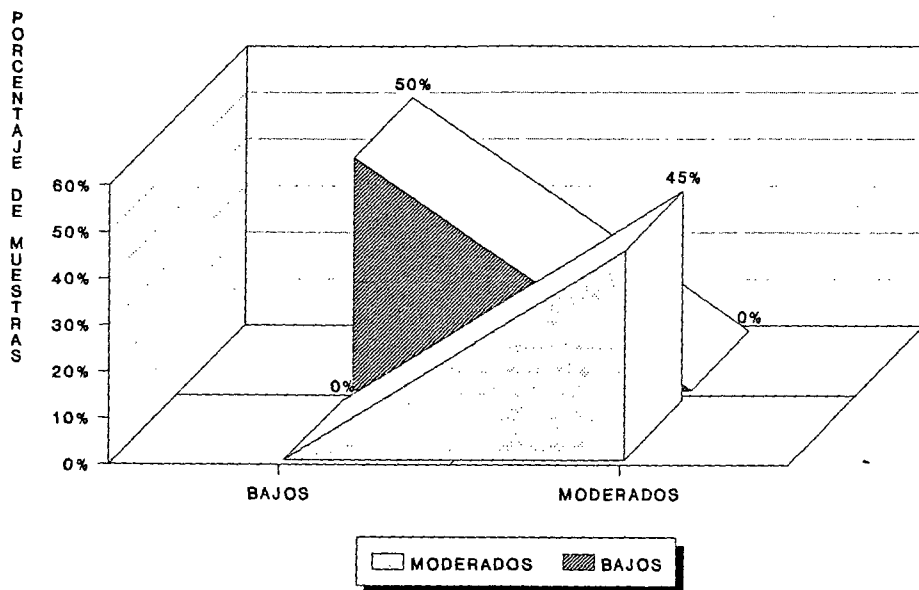
Se determinó el porcentaje de humedad habiendo encontrado un rango de 2.03 % hasta 12.34 %, observando que el porcentaje de humedad en el que se presentaron el mayor número de géneros fue de 3.25 % seguido de 9.87 % y de 9.83 % . (Cuadro N° 1).

De las 80 muestras de maíz procesadas solo 4 no presentaron Unidades Formadoras de Colonias / gr., (U. F. C. / gr.), correspondiendo a un 5 %, y las 76 restantes si presentaron recuentos, de la siguiente manera; **Recuentos Bajos 50 %** , **Recuentos Moderados 45 %** , no encontrando **Recuentos Altos**. (Gráfica N° 1).

Se aislaron 320 cepas fúngicas, correspondientes a los siguientes géneros; *Fusarium* spp. 49.69 % , *Penicillium* spp. 27.2 % , *Aspergillus* spp. 15.3 % , *Alternaria* spp. 2.8 % , *Epicocum* spp. 2.5 % , *Cladosporium* spp. 1.25 % , *Diplodia* spp. 0.62 % y *Escopulariopsis* spp. 0.62 % . (Gráfica N° 2) .

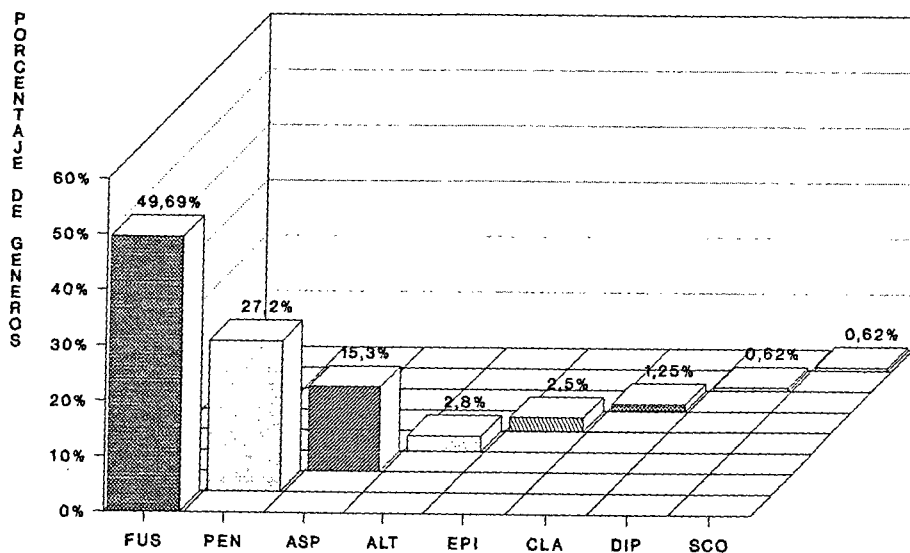
GRAFICA N° 1

RECUENTOS DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS EN MAIZ



GRAFICA N°2

FRECUENCIA RELATIVA DE LOS DIFERENTES GENEROS ENCONTRADOS EN EL MAIZ.



FUS = Fusarium
 PEN = Penicillium
 ASP = Aspergillus
 ALT = Alternaria
 EPI = Epicoccum
 CLA = Cladosporium
 DIP = Diplodia
 SCO = Scopulariopsis

DISCUSIÓN

La alimentación humana y animal en gran parte se basa en el consumo de granos y sus derivados, los que frecuentemente son invadidos por hongos, causando diferentes problemas, entre ellos la contaminación con sustancias tóxicas, (micotoxinas) (19)

Los daños que causan los hongos a los granos dependen en gran medida de la severidad del ataque y del hongo que se trate. Si el ataque es muy severo puede prácticamente destruir el grano como frecuentemente sucede con las pudriciones de las mazorcas del maíz por especies de Fusarium; si el ataque no es severo el hongo permanece en la semilla sin afectarla aparentemente, y esta es la forma en que una gran cantidad de hongos son transmitidos por la semilla de un ciclo agrícola a otro (20)

Por otra parte algunos hongos ponen en peligro la salud de los animales domésticos y la del hombre ya que ciertas especies producen sustancias tóxicas como la zearalenona. Entre estos hongos se encuentran algunas especies de Fusarium hongo que desafortunadamente es muy común en los cultivos agrícolas; siendo este hongo uno de los tres más importantes productores de micotoxinas. (20)

Sin embargo, el factor más importante para el crecimiento y desarrollo de los hongos, es el contenido de humedad de los granos y los productos almacenados, el que está en función directa de la humedad relativa del medio ambiente que los rodea, tendiendo ambos, la humedad del grano y del medio ambiente a equilibrarse. (19)

Koehler en 1938 determinó que una humedad de 18.3 % de peso húmedo era el límite inferior para el crecimiento de Aspergillus flavus en maíz descascarillado. (Citado por la O. P. S. en 1979) (22)

El mayor número de muestras de maíz presentaron una humedad del 3.25 % las cuales presentaron especies fungicas productoras de micotoxinas. En investigaciones anteriores se ha determinado que la humedad inferior al 13 % presenta un mínimo desarrollo fungal. Sin embargo se menciona que el género Aspergillus flavus se desarrolla a una humedad del 10 al 14 % y que los hongos de campo pueden sobrevivir por años en granos secos, esto concuerda con los resultados de este trabajo, al encontrar muestras de maíz que contenían una humedad del 2.03 % al 12.34 % consideradas como muestras secas, y a la vez presentando especies fungicas consideradas de campo. (5, 9)

En las muestras de maíz el 95 % presentaron unidades formadoras de colonias, se encontró que los recuentos bajos se presentaron en un 50 %, seguidos de los recuentos moderados con un 45 % y los recuentos nulos en un 5 % . Si un hongo esporula fácilmente, es el hongo predominante en la muestra de alimento o de grano, entonces el recuento de los factores de propagación o unidades formadoras de colonias serán muy altos. (4)

Si el hongo predominante tiene una baja capacidad de esporulación el recuento será bajo. Este recuento bajo puede ocurrir en una muestra de alimento aún cuando el hongo de baja capacidad de esporulación ha crecido bastante. Esto concuerda con los resultados obtenidos en las unidades formadoras de colonias. Es importante observar la tendencia que sigue una muestra determinada con respecto a la fuente o con respecto al tiempo. (4)

Si los recuentos se están haciendo en maíz y se nota que son más altos de una fuente que de otra, es entonces aconsejable evitar la compra del maíz del abastecedor que tiene los más altos recuentos. (4)

Entre las cepas aisladas con potencial de producción de micotoxinas se encontraron; Fusarium spp., Penicillium spp., Aspergillus spp., en frecuencias elevadas. La presencia del género Fusarium en granos es considerable. En trabajos anteriores se aislaron cepas fúngicas correspondientes a; Aspergillus, Penicillium y Fusarium. (29) (Raper y Fennel) 1965) Lo cual concuerda con los resultados obtenidos.

Estudios desarrollados por investigadores rusos indican que los hongos del género Fusarium y Gladosporium fueron incriminados como causa de un problema; siendo estos hongos muy resistentes al frío, pues requieren temperaturas bajas como la de refrigeración, para producir toxinas. Estos hongos esporulan entre 1 y 4° C y producen su toxina entre -2 y -10° C. (27)

Además se considera al hongo de Fusarium como el principal contaminante del maíz, pero puede ocurrir su presencia en avena, cebada, trigo y sorgo. En estudios anteriores en maíz, soya, trigo y sorgo se encontró que el 8 % de 1,722 muestras estaban contaminadas con zearalenona. La incidencia y concentración en el maíz varió de un año a otro, dependiendo de las condiciones del clima. Se han encontrado consistentemente concentraciones de 19 a 20 mcg./gr. en alimentos para humanos. (32)

Entre los factores que afectan la producción y calidad del grano, destacan por su importancia las enfermedades que atacan a la mazorca; Fusarium moniliforme es un hongo contaminante frecuente y casi universal del maíz.

Bacon en 1992 menciona que Fusarium moniliforme puede ser transportado en el pedicelo del grano con un pequeño número de hifas pero en los granos asociados con toxicidad (leucoencefalomalacia equina), el hongo se encuentra generalmente en una masa de hifas esporuladas que colonizan la mayor parte del hongo incluyendo el embrión. (Citado por Anitox W. (3)

Riley en 1993 determinó que el hongo puede ser transportado en la tierra y sobrevive en los residuos de las plantas particularmente la raíz. También puede sobrevivir en el suelo, como una hifa engrosada dentro de los fragmentos de maíz que se han enterrado a 30 cm. de profundidad con una humedad de suelo de 5 a 35 % y con una temperatura de 5 a 10° C por 12 meses. (Citado por Hanconck) (16)

Es importante resaltar que la clasificación de hongos toxigénicos es para indicar que esos productos ó metabolitos secundarios son nocivos para la salud del hombre y de los animales. Sin embargo, los más recientes descubrimientos de los compuestos elaborados por *Fusarium moniliforme*, algunos son fitotóxicos como el ácido fusarico y la moniliformina otros son promotores o reguladores del crecimiento de las plantas como las auxinas y gibberellinas, finalmente también producen fumonisinas que son lesivas al hombre y a los animales. (23)

En México no se relacionaba la asociación de la fumonisina con la leucoencefalomalacia equina, sin embargo, en estudios se señala por primera vez la confirmación de la FB1 en maíz del estado de Oaxaca, México, donde hubo un brote de leucoencefalomalacia y muerte de equinos y asnos con semiología de tipo nervioso y lesiones de leucoencefalomalacia. (28)

En cuanto a las fuentes de zearalenona fue el maíz única fuente, este maíz proveniente de zonas como las de alrededor del Valle de Toluca, lugar donde la humedad y el frío son altos siendo estas condiciones requeridas por el hongo del género *Fusarium* para producir este metabolito. (28)

Es de suma importancia el manejo de las materias primas y / o de alimentos terminados ya que la contaminación por hongos o sus metabolitos afectan la salud animal y la del hombre; por lo que es fundamental lograr un control adecuado de estos microorganismos y un mejor manejo de los alimentos.

CONCLUSIONES

- 1.- Se obtuvieron diversos porcentajes de humedad que van de 2.03 % a 12.34 %.
- 2.- El porcentaje de humedad que presentó un mayor número de géneros fué de 3.25 %, presentandose otras humedades con menor número de géneros.
- 3.- Los factores de propagación (U. F. C. /gr.) se presentaron en mayor porcentaje, como recuentos bajos 50 % y el 45 % de recuentos moderados.
- 4.- Más del 95 % de maíz se encontró contaminado con hongos y menos del 5 % no presentó crecimientos fungales.
- 5.- Se aislaron e identificaron los géneros de *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. y *Aspergillus* spp. en mayor proporción considerados como productores potenciales de micotoxinas.
- 6.- De las 320 cepas aisladas e identificadas en el maíz 159 correspondieron al género de *Fusarium* spp. considerado como productor de zearalenona.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Agrotecnia : 1988 "Aflatoxicosis", Avances en Medicina Veterinaria. De. Agrotecnia. Vol. IV, No. 5/6 Pag. 243, 246, 249.
- 2.- Antillon R. A. , López C. C. 1987. "Enfermedades nutricionales de las aves". Editado por la Universidad Nacional Autónoma de México. Pags.56, 63, 70, 405 - 412, 413 - 430.
- 3.- Anitox W., Main Road., Ennis Barton. 1995. "Clean feed for breeding" International Hat chery practice. Vol. 9 N° 5 pag. 15 - 17.
- 4.- Autor anónimo 1988., "Evaluación cuantitativa del desarrollo de hongos en el alimento y en los granos". Avicultura Profesional. Vol. 6 N° 2 pag 5.
- 5.- Ávila G. E., 1990. "Anabólicos y Aditivos en la Producción Pecuaria". Tecnología Avipecuaria Vol. N° 3 pag 27 - 28.
- 6.- Bueno O.L., Dia M. C. Garcia., 1989. " Pérdida de materia seca en el maíz provocada por mohos". Tecnología cubana. Porcicultura Mexicana. Año 1 No.1 Vol. I Enero de 1989.
- 7.- Campos N. G. E., 1989. "Problemas ocasionados por hongos y sus toxinas en la reproducción de cerdos". Porcira Año 7 vol.VII No. 77. Pags. 26 - 29.
- 8.- Castillo A. A., Sánchez G. J. I., Rosiles M. R., 1983. "Características físicas y niveles de Aflatoxina B₁ en gallinaza y pollinaza en granjas de Texcoco, Estado de México". Veterinaria México. 14 : Pags. 151, 152.
- 9.- Christensen C. M. Kaufman H. H. 1976. " Contaminación por hongos en granos almacenados". México D. F. Editorial PAX. México.

- 10.- Cottal E. G., 1986. "Manual de métodos estandarizados en Microbiología Veterinaria". Edit. La Prensa Médica Mexicana.
- 11.- Fuentes O. V. 1990. "Micotoxicosis en cerdos" Departamento de Fisiología y Farmacología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.
- 12.- Fernández E. E. 1981., Microbiología Sanitaria Agua y Alimentos. Pags. 109 - 138.
- 13.- Fulgueira C. J. B., Brancaleti de C., 1981 "Detección simultánea de Aflatoxina B₁ y zearalenona en alimento balanceado para cerdos". Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. República de Argentina.
- 14.- Funder S. 1968. Practical Micology. Manual for identification of fungi. Pags. 3 - 141.
- 15.- Garnett E. W. 1993. "Micotoxinas". Porcicultura Mexicana. Año. V No. 3 pag. 28.
- 16.- Hancock D. D. Dennis Blodgett 1992. Colección de muestras para laboratorio. Porcicultura Mexicana pag. 24 - 26.
- 17.- Hesseltine C. W. 1976. Interactions of mycotoxins in animal production national. Academy of sceinces the national research council pag. 3 - 19.
- 18.- Jones F. , 1987. "Controlling mould growth in feeds". Feed International. Vol. 8 No. 3. Pags. 24 - 26.
- 19.- Moreno M. E. , 1988. "Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados". Editado por la Universidad Nacional Autónoma de México. Pags. 7 - 107.
- 20.- Moreno M. E., 1989. " Curso de actualización sobre micotoxicosis aviar-domesticas". Hongos y micotoxinas en granos almacenados, Editado por la Universidad Autónoma de México Pags. 23 - 26.
- 21.- Necoechea R. R., Aguade P. C., 1989 "Micotoxicosis". Enfermedades del cerdo. Editorial Diana.

- 22.- O. P. S. 1979. "Criterios de Salud Ambiental" II Micotoxinas Organización Panamericana de la Salud Pública Científica N° 453 pag. 4,11.
- 23.- Osuna S. O. 1994. "Impacto de las Micotoxinas en la Producción Porcina". Desarrollo Porcícola N° 21 pag. 19.
- 24.- Peraza C. , 1990. "La aflatoxicosis en las aves domesticas". Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas. Pags. 2, 3, 4.
- 25.- Ramírez A. A., 1992. "Salud Pública Veterinaria" Ciencia Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Guadalajara. Pag. 40-44
- 26.- Roger D. W. 1989. "Las micotoxinas en el pienso en peligro para la salud de las aves". Patología VIELAD UPDATE. 1988 : 23 Pag. 145 - 146.
- 27.- Rosiles M. R. 1979. Las Aflatoxinas en las tortillas. Veterinaria México Vol. X N° 1. Pag. 35-70
- 28.- Rosiles M. R. 1995. "Confirmación química y estudio epizootológico de Fumonisina B1 en maíz de Oaxaca causante de Leucoencefalomalacia equina. Veterinaria México Vol. 26 N° 1 pag. 77.
- 29.- Sanchis V. Y., Jiménez., M. A. Calvo 1982. "Micotoxin - Producing fungi isoleted from Bin - stored corn. Mycopathologia 80. pag. 89 93.
- 30.- Samson A. R. Hoekstra. S. E., 1984. Introduction to food - Borne Fungi. Pags. 4 - 247.
- 31.- Smith G. , Raistric H., 1963. "Introducción a la micología industrial". Editorial Acribia, Zaragoza España. Pags. 23 - 40.
- 32.- Smith T. K. 1993. Micotoxinas. Porcicultura Mexicana Año V N° 3 pag. 29 - 30.
- 33.- Taylor C. J. 1987. "Micotoxicosis en cerdos". Enfermedades del cerdo. Manual Moderno. México. Tercera Edición. Pag. 169-171

- 34.- Tejada de H. I. 1985., Manual de laboratorio para análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal. Pags. 21 -22
- 35.- Tovar C. J. 1987. "Micología General" Editorial Limusa México.
- 36.- Tuff W. E., Kubena L. F., Doer J. A.: AUG - SEP 1988 "Interacción de las micotoxinas". Correo Avícola, Año 1 Vol. I No. 7 Pag. 7.
- 37.- Von A. V., 1981. The genera of fungi sporulating in pure culture. Pags. 7 - 66
- 38.- Wagstaf K. R. 1989. "Desarrollo de hongos en alimentos de cerdos" Tecnología Avipecuaria. Año 2 No. 15 Pags. 4 - 5.
- 39.- Wiseman M. O. Ralph., Price D., 1982. "Toxicity of aflatoxin B₁ to penaeid shrimp". Applied and environmental. Microbiology Vol. 44 No. 6 Pags. 1479 - 1481.
- 40.- Wyatt R. D. 1988. "La coloración rosada del maíz motivo de alarma". Departamento de Avicultura. Universidad de Georgia. Avicultura Profesional. Vol. 6 No. 2 Pags. 49, 50.
- 41.- Wyatt R. D., 1990 "Importancia de los hongos en la Salud Animal". Avicultura Profesional. Vol. 8 No. 2 Pags. 48 - 50.