

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**ESCUELA DE GRADUADOS**



DETERMINACION DE ESPECIES FUNGICAS Y DE AFLATOXINAS  
B<sub>1</sub>, G<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>2</sub> EN ALIMENTO PARA POLLO DE ENGORDA, EN  
GRANJAS DE LA PERIFERIA DE GUADALAJARA.

---

TRABAJO QUE CON CARACTER DE  
**T E S I S**  
P R E S E N T A  
MARGARITA HERNANDEZ GALLARDO  
PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO  
EN CIENCIAS DE LA NUTRICION ANIMAL  
GUADALAJARA, JAL. AGOSTO 1992

---

U N I V E R S I D A D   D E   G U A D A L A J A R A

Escuela de Graduados

DETERMINACION DE ESPECIES FUNGICAS Y DE AFLATOXINAS

B<sub>1</sub>, G<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> Y G<sub>2</sub> EN ALIMENTO PARA POLLO DE ENGORDA, EN GRANJAS

DE LA PERIFERIA DE GUADALAJARA.

Trabajo que con Carácter de:

T E S I S

Presenta:

MARGARITA HERNANDEZ GALLARDO

Para Obtener el Grado de Maestro en Ciencias  
de la Nutrición Animal

Guadalajara, Jalisco. Agosto de 1992

DIRECTOR DE TESIS  
DR. AGUSTIN RAMIREZ ALVAREZ

ASESOR DE TESIS  
M. EN C. DANIEL SALVADOR MONROY

*D E D I C A T O R I A S*

*AL DIRECTOR DE TESIS*

DR. AGUSTIN RAMIREZ ALVAREZ

CON PROFUNDO AGRADECIMIENTO

*AL ASESOR DE TESIS*

POR SU GRAN AYUDA

M. EN C. DANIEL SALVADOR MONROY

CON CARÍÑO Y ESTIMACION

*A G R A D E C I M I E N T O S*

*ASESORIA DE TESIS*

DR. AGUSTIN RAMIREZ ALVAREZ  
M. EN C. DANIEL SALVADOR MONROY  
M.V.Z. MARIO REAL NAVARRO

*ASESORIA PRACTICA*

Q.F.B. RAUL FLORES CURIEL

*EN ESPECIAL AL*

LIC. ROQUE QUINTANILLA

POR SU GRAN APOYO

*DISEÑO DE TESIS*

M.V.Z. M. GUADALUPE NEGRETE FIGUEROA

*RECOLECCION DE MUESTRAS*

C. P. SALVADOR HERNANDEZ

*" A TODOS LOS QUE AMO "*

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

DETERMINACION DE ESPECIES FUNGICAS Y DE AFLATOXINAS  
B1, G1, B2 Y G2 EN ALIMENTO PARA POLLO DE ENGORDA, EN GRANJAS  
DE LA PERIFERIA DE GUADALAJARA



I N D I C E

R E S U M E N .....	I
INTRODUCCION .....	1
FUNDAMENTOS .....	8
HIPOTESIS .....	13
OBJETIVOS .....	14
MATERIAL Y METODO .....	15
RESULTADOS .....	28
DISCUSION .....	41
CONCLUSIONES .....	47
BIBLIOGRAFIA .....	49

## R E S U M E N

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Se procesaron 72 muestras de alimento para pollo de engorda, provenientes de 28 granjas de la periferia de Guadalajara.

El recuento de hongos se realizó por la técnica de vaciado en placa, para los aislamientos se utilizó agar papa dextrosa, estos se identificaron por sus características macroscópicas y microscópicas, con recuentos que variaron de 100,00 - 1'000,000 UFC, la determinación de aflatoxinas se efectuó por la técnica de cromatografía en capa fina.

Los resultados fueron los siguientes; el 94.4% de las muestras presentaron hongos productores de aflatoxinas, el 75% fueron positivas a aflatoxinas, del total de las muestras el 58.33% contenía aflatoxina B<sub>1</sub>, el 38.88% B<sub>2</sub>, el 25% G<sub>2</sub> y el 8.33% G<sub>1</sub>, en concentraciones que variaron de 67 a 162 ppb.

La humedad fluctuó del 8 al 12.5%, la mayor incidencia fúngica se presentó al 10%.

El alimento se clasificó en cuatro grupos, dependiendo de las condiciones de almacenamiento y presentación:

Grupo 1: Alimento elaborado en la granja, almacenado a granel y presentación en polvo.

Grupo 2: Alimento elaborado en la granja, almacenado a granel y presentación en migajas.

Grupo 3: Alimento comercial, almacenado en costal y presentación en polvo.

Grupo 4: Alimento comercial, almacenado en costal y presentación en migajas.

En el Grupo 1 se encontraron dos muestras con las siguientes especies fúngicas; Aspergillus, Penicillium y Fusarium. En una de las muestras se identificó Aflatoxina B<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>.

En el Grupo 2 se encontró; Aspergillus, Penicillium, Cladosporium, Fusarium, Alternaria, Trichoderma, Paecilomyces, Epicoccum, Rhizopus, Verticillium, Absidia, Phoma, Mucor y Aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>.

En el Grupo 3 se encontró; Aspergillus, Penicillium, Cladosporium, Fusarium, Alternaria, Trichoderma, Epicoccum, Rhizopus, Absidia, Phoma y Aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>.

En el Grupo 4 se encontró; Aspergillus, Penicillium, Cladosporium, Fusarium, Alternaria, Trichoderma, Rhizopus, Verticillium, Absidia, Phoma, Mucor y Aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>.

## I N T R O D U C C I O N

Es de todos sabido que mediante los alimentos proporcionamos los nutrientes indispensables para el desarrollo y la reproducción de los animales domésticos, sin embargo también existe la posibilidad de aportar mediante el alimento, compuestos tóxicos y microorganismos no deseables, reduciendo así la productividad (36, 39, 48).

Dentro de los compuestos tóxicos que contaminan los alimentos encontramos las aflatoxinas que son un grupo de metabolitos secundarios, producidos por algunas cepas de Aspergillus flavus y Aspergillus parasiticus siendo, por su naturaleza ubicua de un elevado riesgo de contaminación a productos vegetales (12, 14, 20, 31, 41, 43, 47).

Durante los últimos 25 años se han estudiado aproximadamente 200 metabolitos tóxicos producidos por hongos, de los cuales las aflatoxinas son las que más preocupan en la actualidad a la industria avícola. En el Cuadro No. 1 se mencionan algunos hongos y aflatoxinas asociadas con diversos productos agrícolas (12, 23, 30).

## CUADRO No. 1

## HONGOS TIPICOS Y MICOTOXINAS ASOCIADAS CON DIVERSOS PRODUCTOS AGRICOLAS

MICOTOXINAS	HONGOS	LOCALIZACION	
AFLATOXINAS	<u>ASPERGILUS FLAVUS*</u>	CACAHUATE, HARINA, NUEZ DE BRASIL, ARROZ, CEBADA TRIGO, AVENA, PACANA. ARROZ, CEBADA, TRIGO AVENA.	
	<u>A. PARASITICUS*</u>		
	<u>FUSARIUM SPP.</u>		
ALEUKIA TOXICO ALIMENTICIO (A T A)	<u>FUSARIUM SPP.</u>	GRANOS	
	<u>CLADOSPORIUM SPP.</u>	PASTOS BERMUDA.	
	<u>HONGOS NO IDENTIFICADOS</u>		
CITRININA	<u>PENICILIUM CITRINUM*</u>	PASTO BERMUDA, CENTENO Y ARROZ	
	<u>P. VIRIDICATUM*</u>		
	<u>P. CITRE VIRIDE</u>		
	<u>P. EXPANSUM</u>		
	<u>P. FELLUTANUM</u>		<u>P. NOTALUM</u>
	<u>P. IMPLICATUM</u>		<u>P. PALITANS</u>
	<u>P. JENSII</u>		<u>P. STECKII</u>
	<u>P. LIVIDUM</u>		<u>P. CORYLOPHILUM</u>
			<u>A. CANDIDUS</u>
			<u>A. NIVEUS</u>
	<u>A. TERREUS</u>		
ALCALOIDES DEL CORNEZUELO	<u>CLAVICEPS PURPUREA</u>	CENTENO, OTROS GRANOS, HIERBA Y OTROS PASTOS	
	<u>FUSARIUM SPP.</u>	PASTO FRESCO	
OCRATOXINA	<u>ASPERGILLUS OCHRACEUS*</u>	NUEZ DEL BRASIL, FRUTAS DE CITRICOS, CAFE Y TABACO.	
	<u>A. MELLEUS</u>		
	<u>A. SULPHREAS</u>		
	<u>P. CYLOPIUM</u>		
PATULINA	<u>PENICILLIUM EXPANSUM*</u>	<u>P. LEUCOPUS</u>	JUGO DE MANZANA, VARIAS
	<u>P. CYCLOPIUM</u>	<u>P. MELINII</u>	FRUTAS PROCESADAS
	<u>P. CLAVIFORME</u>	<u>P. NOVAE-ZEELANDIAE</u>	
	<u>P. DIVERGENS</u>	<u>P. URTICAE (P. PATULUM)</u>	
	<u>P. EQUINUM</u>	<u>ASPERGILLUS CLAVATUS</u>	
	<u>P. GRANULATUM</u>	<u>A. GIGANTEUS</u>	
	<u>P. GRISEOFULVUM</u>	<u>A. TERREUS</u>	
	<u>P. LANOSUM</u>	<u>BYSSOCHLAMYS NIVEA</u>	
	<u>P. LAPIDOSUM</u>		

ACIDO PENICILINICO	<u>PENICILLIUM CYCLOPIUM*</u>	<u>P. ROQUEFORTI</u>	GRANOS, FRIJOL,
	<u>P. AURANTIO VIRENS</u>	<u>P. SIMPLICISSIMUM</u>	TABACO
	<u>P. BAARNENSE</u>	<u>P. STOLONIFERUM</u>	
	<u>P. FENNELIAE</u>	<u>P. VIRIDICATUM</u>	
	<u>P. JANTHINELLUM</u>	<u>ASPERGILLUS OCHRACEUS</u>	
	<u>P. LIVIDUM</u>	<u>A. ALLIACEUS</u>	
	<u>P. MARTENSII*</u>	<u>A. MELLEUS</u>	
	<u>P. PALITANS</u>	<u>A. SCLEROTIORUM</u>	
	<u>P. PUBERULUM</u>	<u>A. SULFHREUS</u>	
		<u>SCLEROTINIA SCLEROTIORUM</u>	
RUBRATOXINA	<u>PENICILLIUM RUBRUM*</u>		GRANOS, OTROS GRANOS
	<u>P. PURPUROGENUM</u>		
SLAFRAMINA	<u>RHIZOCTONIA LEGUMINICOLA</u>		TREBOL ROJO
EPORODESMINA	<u>PITHOMYCES CHARTARUM</u>		PASTURAS
STACHYBOTRYOXICOSIS	<u>STACHYBOTRYS CHARTARUM</u> <u>(S. ALTERNANS)</u>		PAJA, HENO
ESTERIGMATOCISTINA DERIVADOS	<u>ASPERGILLUS AMSTELODAMI</u>		GRANOS, PASTOS, CAFE
	<u>A. CHEVALIERI</u>		DIVERSOS ALIMENTOS
	<u>A. FLAVUS</u>		
	<u>A. NIDULANS</u>		
	<u>A. VERSICOLOR*</u>		
	<u>BIPOLARIS SOROKINIANA</u> <u>PENICILLIUM LUTEUM</u>		
TREMORGENOS	<u>ASPERGILLUS CLAVATUS</u>	<u>P. PALITONS</u>	VARIOS MOHOS, ARROZ
	<u>A. FLAVUS</u>	<u>P. PAXILLI</u>	ALIMENTOS COMERCIALES
	<u>A. FUMIGATUS</u>	<u>P. PUBERULUM</u>	
	<u>PENICILLIUM CRUSTOSUM</u>	<u>P. VERRUCULOSUM</u>	
	<u>P. CYCLOPIUM</u>	<u>ROSELLINIA NECATRIX</u>	
	<u>P. MARTENSII</u>		

## TRICOTECENOS

<u>FUSARIUM AVENACEUM</u>	<u>F. POAE</u>
<u>F. CULMORUM</u>	<u>F. SOLANI</u>
<u>F. EQUISETI</u>	<u>F. SPOROTRICHIOIDES</u>
<u>F. GRAMINEARUM</u>	<u>F. TRICINCTUM*</u>
<u>(F. ROSEUM, GIBBERELLA ZEAЕ)</u>	
<u>F. LATERITIUM</u>	
<u>F. MONILIFORME</u>	
<u>F. OXYSPORUM</u>	

PENICILLIUM CITREO-VIRIDE

ARROZ

P. ISLANDICUMP. RUGULOSUM

## ZEARALENONA

<u>FUSARIUM GRAMINEARUM</u>	<u>F. OXYSPORUM</u>	VARIOS GRANOS
<u>(F. ROSEUM*)</u>	<u>F. SPOROTRICHIOIDES</u>	
<u>F. MONILIFORME</u>	<u>F. TRICINCTUM</u>	

\* LAS ESPECIES MAS IMPORTANTES PRODUCTORAS DE TOXINAS. (6)

Las aflatoxinas pueden formarse, en productos alimenticios antes y después de la cosecha así como durante su almacenamiento (14, 18, 24, 26, 30, 35, 40).

Para que estas aflatoxinas puedan formarse se requiere que los hongos productores tengan condiciones de humedad y temperatura óptimos; La humedad del substrato es el principal factor que regula el crecimiento fungal y la ulterior formación de aflatoxinas. En el Cuadro No. 2 se muestra los contenidos de humedad de diferentes granos y semillas en las cuales se desarrollan diferentes hongos (34). Otros factores de suma importancia dentro de la producción de aflatoxinas es la temperatura dentro de las cuales encontramos; una mínima de 12° C, una óptima de 27-30° C y una máxima de 40-42° C, influyendo así mismo el tiempo de almacenamiento, deficiencias en la cosecha, aereación insuficiente en el almacenaje, granos quebrados (comprimidos rotos), contenido de bióxido de carbono, calidad biológica de la semilla y tipo de alimento (13, 14, 18, 26, 34, 36, 40, 41, 49).

En condiciones favorables las aflatoxinas pueden llegar a desarrollarse en forma elevada en 24 hrs., los niveles máximos se alcanzan de 7 a 10 días (47).

Una vez que se establecen los factores ambientales adecuados para la formación de hongos éstos producirán sustancias tóxicas en el alimento, alterando sus propiedades nutricionales con las consecuentes pérdidas económicas.

## CUADRO No. 2

Contenido de humedad de diferentes granos y semillas \* en equilibrio con humedades relativas de 65 - 90% y hongos que comúnmente se les encuentra creciendo bajo esas condiciones de humedad.

HUMEDAD RELATIVA	AVENA, ARROZ CEBADA, CENTENO MAIZ, SORGO TRIGO	SOYA	CARTAMO CACAHUATE Y GIRASOL	HONGOS
65 - 70	13.0 - 14.0	12.0 - 13.0	5.0 - 6.0	<i>ASPERGILLUS HALAPHILICUS</i>
70 - 75	14.0 - 15.0	13.0 - 14.0	6.0 - 7.0	<i>A. RESTRICTUS</i> <i>A. GLAUCUS</i>
75 - 80	14.5 - 16.0	14.0 - 15.0	7.0 - 8.0	<i>A. CANDIDUS</i> <i>A. OCHRACEUS</i> MAS LOS DE ARRIBA
80 - 85	16.0 - 18.0	15.0 - 17.0	8.0 - 10.0	<i>A. FLAVUS</i> <i>PENICILLIUM</i> MAS LOS DE ARRIBA
85 - 90	18.0 - 20.0	17.0 - 19.0	10.0 - 12.0	<i>PENICILLIUM</i> MAS LOS DE ARRIBA

\* Porcentajes de humedad con base a peso húmedo. Las cifras son aproximaciones, en la práctica se pueden esperar variaciones  $\pm 1.0\%$

FUENTE: CHRISTENSEN Y SAUER (1982) (36)

CUCBA

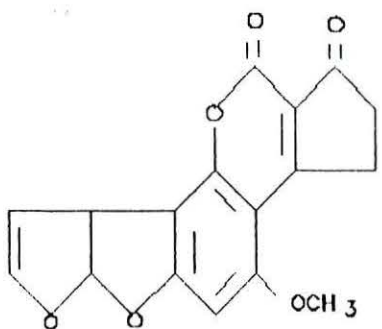


BIBLIOTECA CENTRAL

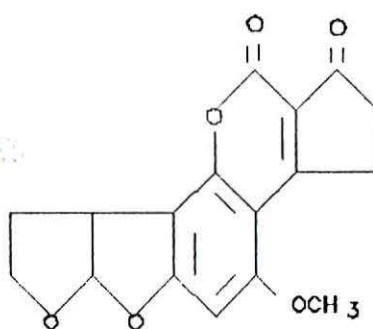


Las aflatoxinas más comunes son; B1, G1, B2 y G2. La aflatoxina B1 generalmente se le encuentra en mayor frecuencia, siendo la más tóxica, caracterizándose además por su elevada hepatotoxicidad. Las cuatro sustancias se distinguen por su color fluorescente al observarlas bajo la luz ultravioleta en donde B corresponde a Azul (del inglés Blue) y G a Verde (del inglés Green) su estructura química corresponde a la siguiente:

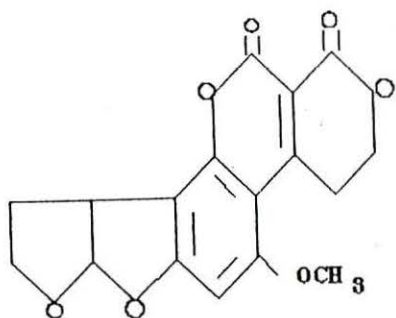
AFLATOXINA B1



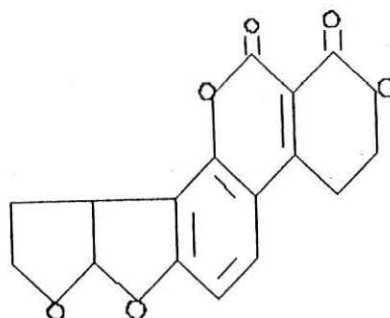
AFLATOXINA B2



AFLATOXINA G1



AFLATOXINA G2



## FUNDAMENTOS

Las aflatoxinas son un grupo de sustancias elaboradas por hongos, y en pequeñas cantidades son tóxicas a los animales que las ingieren y en algunos casos al estar en contacto con la piel (2, 24, 25).

Cuando las aflatoxinas son consumidas por los animales el compuesto o sus metabolitos aparecerán en la orina, heces fecales, y principalmente en la leche, constituyéndose así en contaminantes de los alimentos que son destinados para el consumo del hombre, por lo que revisten gran importancia por presentar un serio problema de Salud Pública (2, 12 18).

Con relación a los problemas que ocasionan las aflatoxinas en las aves los cuadros clínicos varían considerablemente, esto va a depender de; la especie, edad, sexo, raza, dosis, tiempo de la exposición y tipo de alimento que se administre (2, 15, 19, 24, 37).

Los efectos observados en las intoxicaciones por estas aflatoxinas son múltiples y variados, entre ellos encontramos; reducción en la absorción de nutrientes, trastornos en la reproducción, disminuye el consumo de alimento, se reduce el sistema inmunocompetente de los animales, bajos índices de fertilidad y como consecuencia una alta mortalidad (2, 11, 24, 25, 30, 37, 41, 55, 56, 61).

Hacia finales de los años cincuenta se observó en los países anglosajones una hepatitis exudativa de origen desconocido que afectaba a animales domésticos. En 1960 enfermaron y murieron aproximadamente 100 mil pavos y entonces se conoció en Inglaterra la relación entre la enfermedad y el alimento enmohecido. Las investigaciones intensivas que se realizaron en torno a este problema permitió concluir que la causa de la muerte de las aves era una sustancia producida por el hongo Aspergillus flavus por lo que se les llamó aflatoxinas, aludiendo a su origen y encontrando que se trataba de una serie de compuestos tóxicos químicamente relacionados, los cuales varían en su toxicidad (2, 15, 23, 24, 30, 49, 61).

En los últimos cincuenta años numerosos casos se han estado reportando en diversos países, a consecuencia de los graves problemas que han ocasionado las diferentes micotoxinas, por ejemplo:

En la India, se reportó una pérdida de 4 mil conejos que se le atribuyó al alimento contaminado con aflatoxinas (63).

En Finlandia, murieron en una granja 250 aves. Se encontró esterigmatocistina otra micotoxina en el alimento a razón de 4 mg./Kg. (55).

En Rumania se informó que 8 cepas de Penicillium oxalicum produjeron ácido cecalónico D, cuando se cultivaron en trigo (55).

En Europa Oriental, en Ucrania, entre 1979 y 1985 se observaron brotes atribuibles a toxinas, en particular el ácido kójico, formado por Aspergillus flavus aislado de salvado y soya rolada (55).

En Alemania se detectaron por cromatografía de líquidos de alta presión, cantidades residuales de ocratoxina A en un 21% de riñones de cerdo en un rastro y en 25 muestras de sangre recolectadas en un mes (56).

En Escocia se reportó que 6 riñones de cerdo se caracterizaron por presentar lesiones a causa de ocratoxina, también se observó que en 5 riñones examinados se determinaron sus concentraciones de ocratoxina A, éstos tenían residuos mayores a 10 mcg./Kg. (56).

En Rusia se encontraron 22 muestras de alimento conteniendo ácido kójico, sustancia elaborada por hongos del género Aspergillus flavus, Aspergillus oryzae, Aspergillus fumigatus y Aspergillus nidulans. (56)

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

dólares sólo para el maíz. Las pérdidas de Georgia inducidas por la contaminación del cacahuate con hongos productores de aflatoxinas entre 1972 y 1973 se calcularon en doce millones de dólares (39).

En algunas áreas de los Estados Unidos últimamente la producción de aflatoxinas en maíz en el campo ha sido un serio problema particularmente en los estados del sureste en donde el maíz es ampliamente utilizado en la alimentación del ganado vacuno, lechero y de carne, cerdos y aves (39).

En México, se ha venido observando en algunos municipios del estado de Jalisco: Tecolotlán, Juchitlán, Ameca, El Arenal, Tenamaxtlán, Techaluta, Atoyac y Amatitlán. La causa más viable de las muertes en estos casos, es el envenenamiento por maíz enmohecido, el que produce una neurotoxina por el crecimiento del hongo Fusarium moniliforme sobre el maíz. Se ha demostrado en muchas partes del mundo que la ingestión de dicho maíz enmohecido por equinos, es causa de Leucoencefalomalasia con signos clínicos tales como; temblores musculares, debilidad, inestabilidad en el paso, caminar en círculo, imposibilidad para tragar y marcada depresión, la muerte puede ocurrir de 48 a 72 hrs. después de ser ingerido el alimento. A éste síndrome se le conoce localmente como " Relámpago " caracterizado por signos de encefalitis y un alto porcentaje de muertes. Se descarta la encefalitis dado que en la época en que se presentaron los casos los vectores (mosquito) no se encuentra presente en el medio ambiente (7, 9, 10).

En el estado de Sonora, 1977 se menciona un brote de hiperestrogenismo en porcinos. Se identificó Zearalenona en el alimento, y se logró reproducir el problema en ratas gestantes. En 1978 se mencionan algunos casos de aborto causados por aflatoxinas en bovinos y en un bisonte (15).

Se han detectado un gran número de toneladas de maíz contaminado con aflatoxinas procedentes de Tamaulipas\*

Aunque se carece de investigaciones científicas sobre eventos de intoxicación aguda y crónica de aves en nuestro país, los reportes y evidencias clínicas, así como los niveles de contaminación comprobados en alimentos pecuarios indican que la aflatoxicosis representa un serio problema para las especies productivas y por ende para los consumidores.

\* Periódico El Sol de México, 22 de Junio de 1991  
" " " , 26 de Junio de 1991  
Periódico El Nacional, 27 de Junio de 1991  
Periódico El Heraldó, 5 de Junio de 1991

## H I P O T E S I S

El insuficiente control de calidad en los ingredientes para la nutrición animal y las deficientes técnicas de almacenamiento y manejo aunadas a las condiciones climáticas imperantes en nuestro medio, hace que se esperen elevados niveles de contaminación por aflatoxinas en las raciones destinadas a las aves.

## O B J E T I V O S

### OBJETIVO GENERAL

Determinar la flora micológica y aflatoxinas presentes en el alimento para pollo de engorda.

### OBJETIVOS PARTICULARES

A) Identificar las especies fúngicas más frecuentes en alimento para pollo con especial atención a las productoras potenciales de micotoxinas.

B) Determinar la carga fúngica de los alimentos mediante recuentos (UFC/g).

C) Cuantificación de aflatoxinas B1, G1, B2 y G2 en alimento para pollo de engorda por cromatografía en capa fina.

D) Determinar la proporción en que se presentan las cuatro aflatoxinas en alimentos para pollo de engorda.

E) Determinar la correlación entre presencia de hongos y aflatoxinas con la presentación del alimento (migajas-polvo) y el tipo de almacenamiento (encostalado-granel).



Este trabajo se llevó a cabo en 28 granjas para pollo de engorda de la periferia de Guadalajara.

Se obtuvieron 72 muestras de alimento terminado de las cuales 25 fueron de iniciación, 10 de desarrollo y 37 de finalización, recolectadas entre el mes de junio y agosto. Estas fueron tomadas de comederos, tolvas y almacenamiento (encostalado y a granel) formando muestras compuestas de aproximadamente 2 kgs. Se transportaron en bolsas de papel al Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara, para la realización de las siguientes pruebas:

1) Determinación de humedad. (Diagrama No. 1)

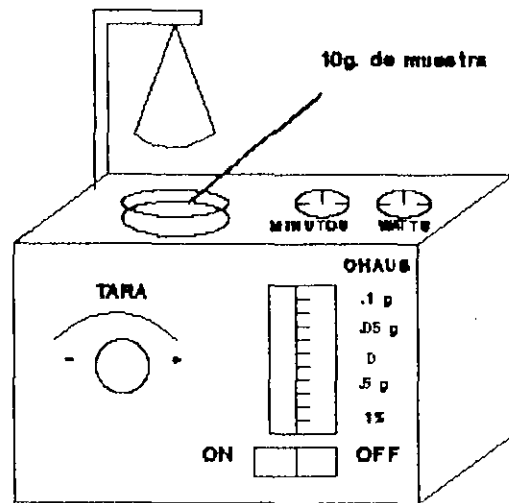
2) Cuantificación e identificación de hongos. (Diagrama No.2)

3) Determinación cualitativa y cuantificación de aflatoxina B1, G1, G2 y B2. (Diagrama No. 3)

**NOTA:** Las muestras se trabajaron por triplicado.

Por las características del trabajo descriptivo, no se utilizó un método estadístico específico.

1- DETERMINACION DE HUMEDAD

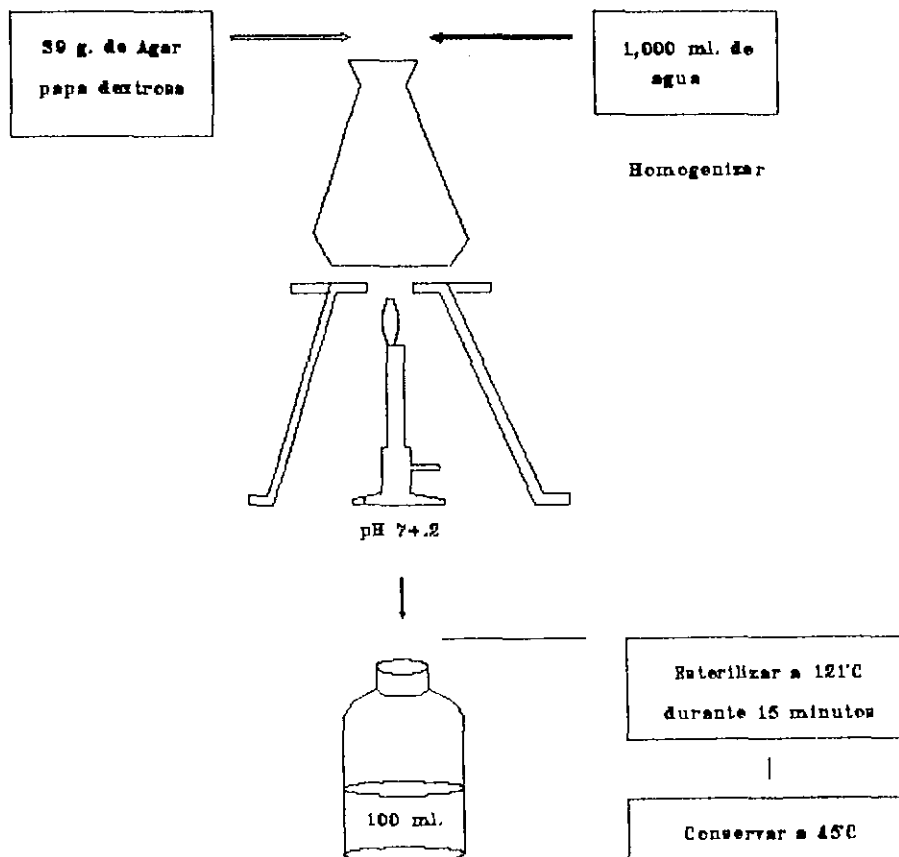


La muestra se mantuvo durante 10 min. y se tomó la lectura.

DIAGRAMA No. 2

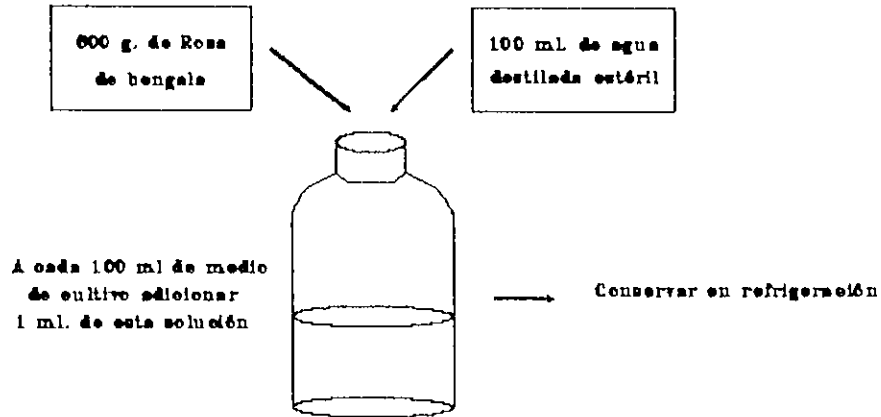
2- CUANTIFICACION E IDENTIFICACION DE HONGOS

PREPARACION DEL MEDIO DE CULTIVO

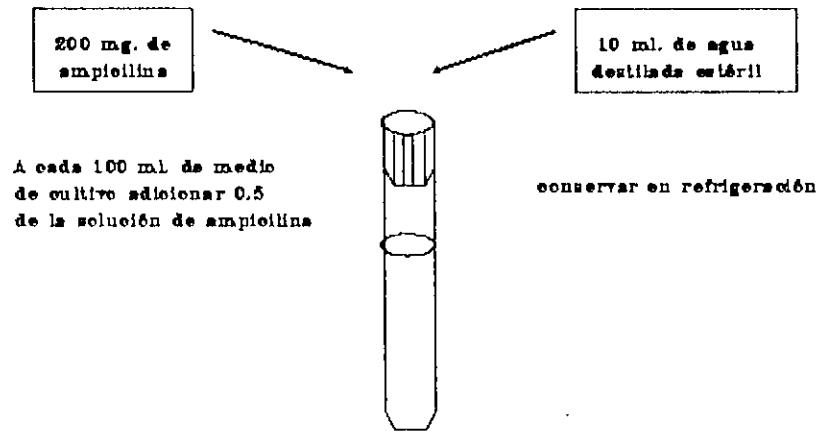


## PREPARACION DE LA SOLUCION DE ROSA DE BENGALA

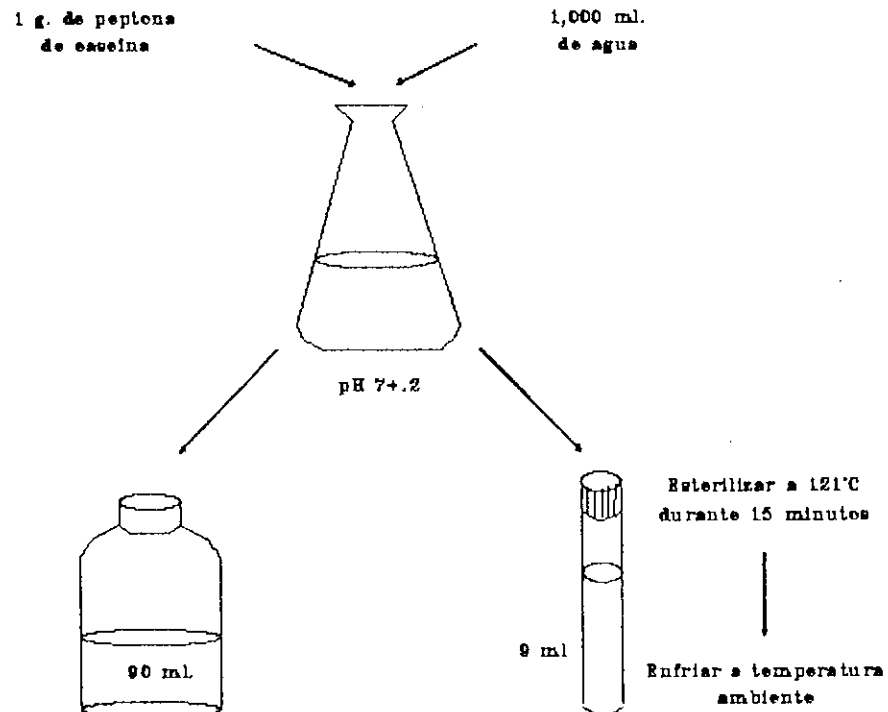
17



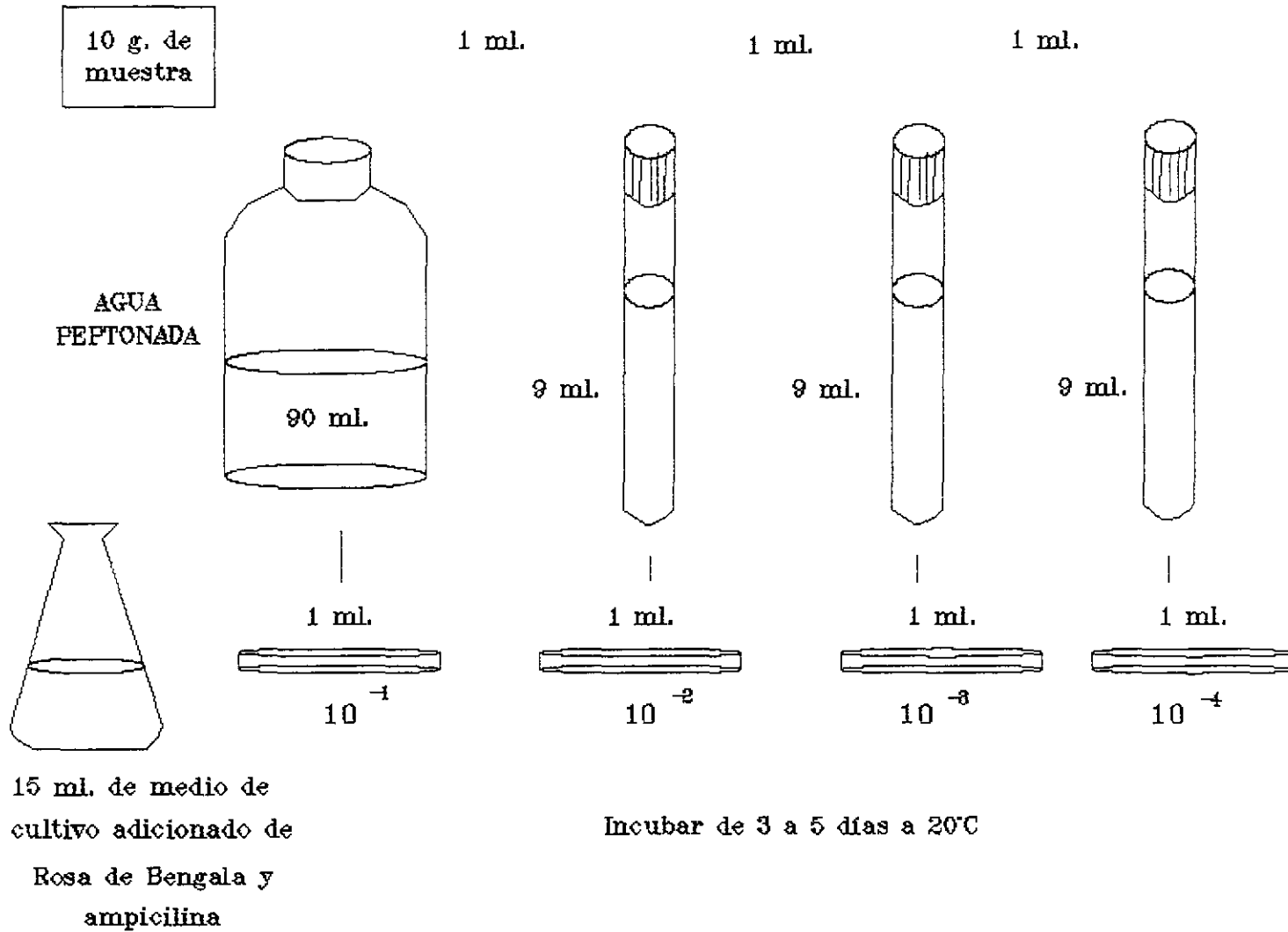
## PREPARACION DE LA SOLUCION DE AMPICILINA



## PREPARACION DEL DILUENTE DE PEPTONA.



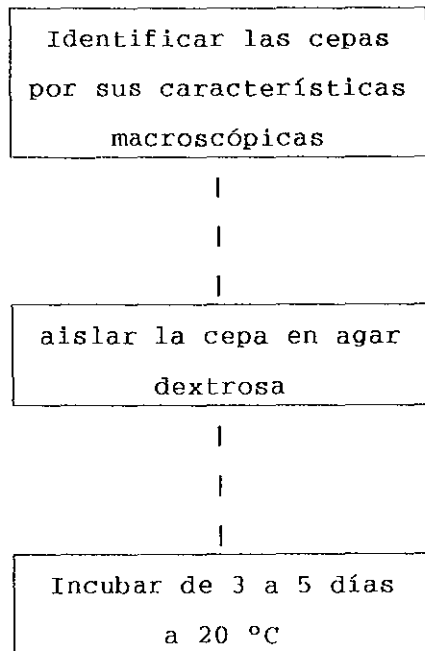
## RECUESTO DE HONGOS POR LA TECNICA DE VACIADO EN PLACA

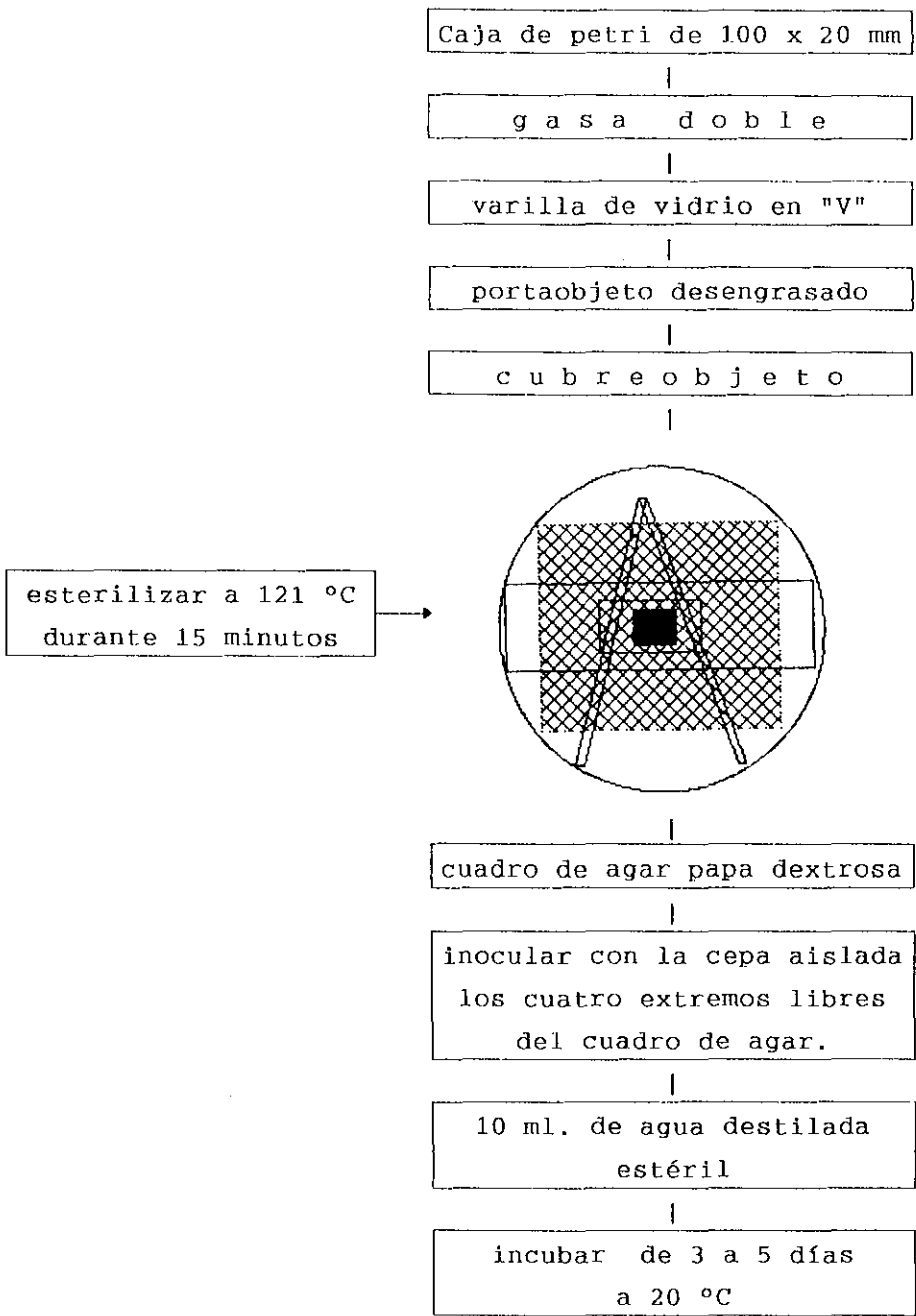


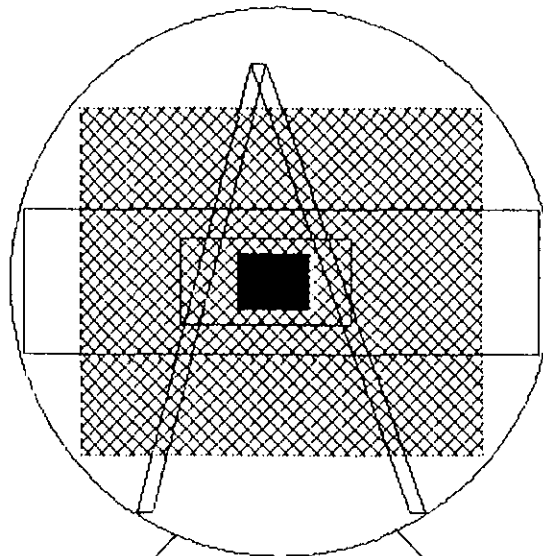
## INTERPRETACION DE RECUENTOS DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS

<sup>2</sup> 10	-	<sup>3</sup> 10	----->	Recuentos Bajos
<sup>4</sup> 10	-	<sup>5</sup> 10	----->	Recuentos Moderados
<sup>6</sup> 10	-	<sup>7</sup> 10	----->	Recuentos Altos

## AISLAMIENTO







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

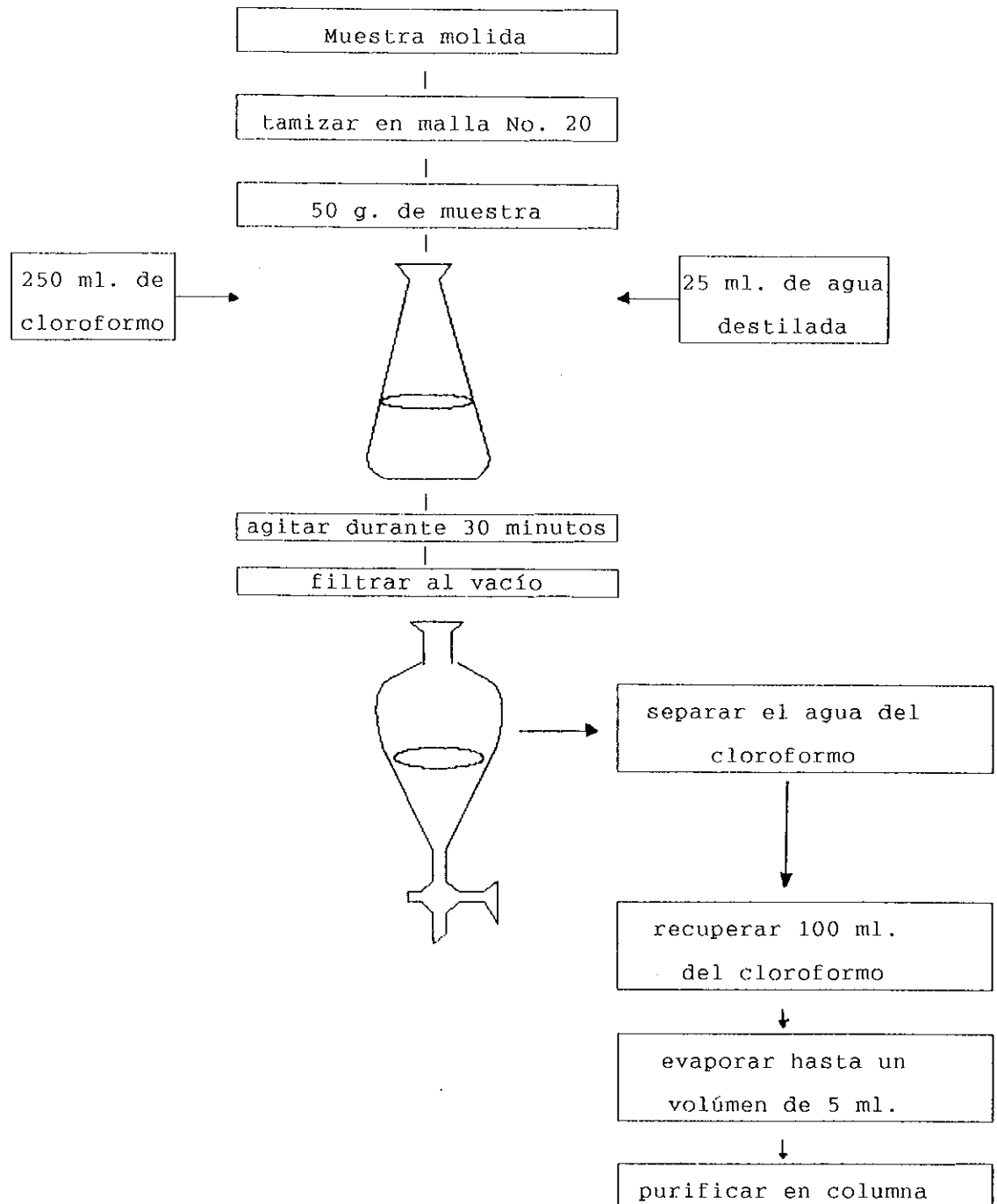
Sobreponerlo en un portaobjeto limpio

Sobre ponerle un cubreobjeto limpio

Observar al microscopio

## 3.- DETERMINACION CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DE AFLATOXINA B1, B2, G1 Y G2.

## EXTRACCION





# PURIFICACION EN COLUMNA

Empaquetamiento de la columna

Algodón  
+  
0.5 g. de sulfato de sodio anhidro  
+  
1 g. de sílice gel 60  
(70 - 230 mallas para cromatografía en columna)  
+  
1.5 g de sulfato de sodio anhidro

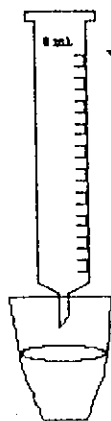


## PURIFICACION

5 ml. del extracto  
5 ml. de hexano  
5 ml. de éter

— desechar

5 ml. de mezcla de cloroformo metanol ( 97: 3 )



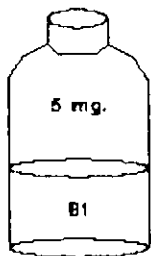
RECUPERAR



evaporar a sequedad

Resuspender en 500 ml de cloroformo al aplicar a la cromatoplasa

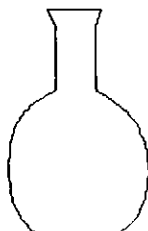
Estándar



2.5 ml. Benceno más acetónitrilo (98+2) agitar en vortex por un minuto, dando una concentración de 2,000 mcg/ml.

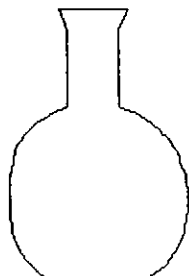
TOMAR

0.1 ml.



Aforar a 10 ml. con benceno más acetónitrilo (98+2) agitar por un minuto, dando una concentración de 20 mcg./ml.

TOMAR  
5 ml.



Aforar a 10 ml. con Benceno más acetónitrilo (98+2), agitar por un minuto dando una concentración de 10 mcg/ml

Repetir lo anterior con cada uno de los estándares.

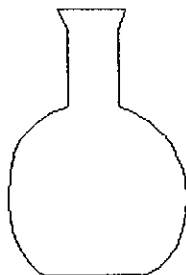
SOLUCION DE TRANSFERENCIA DE ESTANDARES

TOMAR

B1 50 ml.
B2 10 ml.
G1 50 ml.
G2 10 ml.



Completar a 1,000 ml



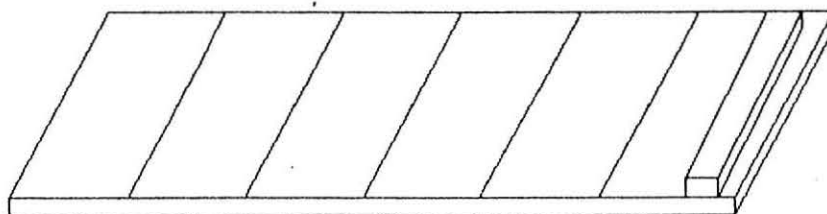
PREPARACION DE CROMATOPLACAS

30 g. de silica gel  
 ↓  
 66 ml. de agua destilada



agitar

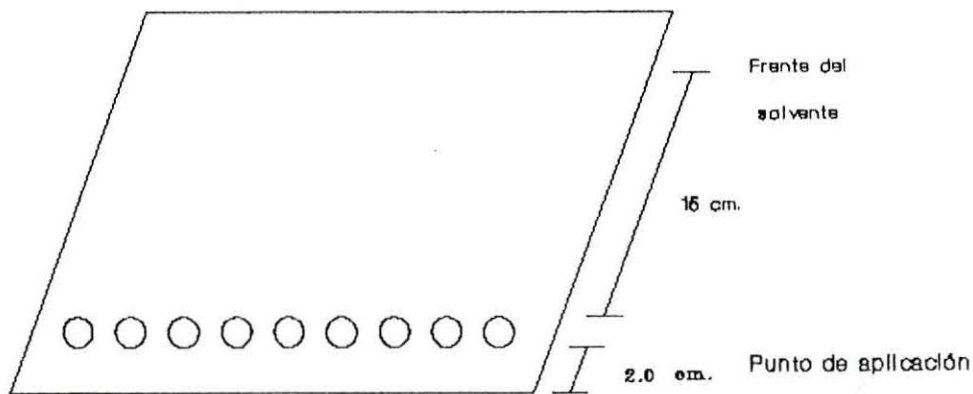
aplicacion en placas de cristal 20 x 20 x 0.3 mm.



dejar a temperatura ambiente  
 durante 30 minutos

activar en horno a 110°C  
 durante 60 minutos

APLICACION DEL EXTRACTO Y ESTANDAR A LA CROMATOPLACA



Muestra 0.5 5 0.5 0.5 mcl.

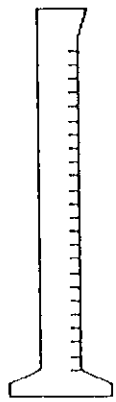
Est3nder 5 0.5 5 0.5 5 1

CUCBA



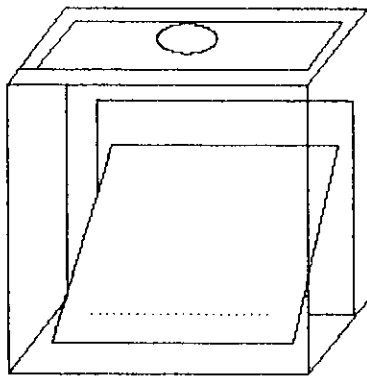
# DESARROLLO DE LA CROMATOPLACA

30 ml de acetona  
+  
170 ml de cloroformo  
+  
3 ml de agua destilada



Sellar con grasa  
silicona

papel filtro 20 x 20 cm



Dejar el tiempo necesario  
para que los solventes alcancen  
una altura de 16 cm. a partir del  
punto de aplicación.

Retirar la cromatoplaca y dejar  
secar a temperatura ambiente

Observar a la luz ultravioleta  
para comparar fluorescencia de  
la muestra contra el estándar

Determinar Rf de la muestra  
contra el Rf del estándar  
mediante la fórmula;

$$R_f = \frac{\text{frente de soluto}}{\text{frente de solvente}}$$

## DETERMINACION SEMICUANTITATIVA

$$\text{mg/kg} = ( S \times Y \times V ) ( X \times W )$$

En donde:

S = mcl. de la solución estándar igual a la de la muestra del problema

Y = Concentración del estándar mcg/ml.

V = mcl. de la dilución final del extracto de la muestra

X = mcl. del extracto de la muestra obtenida

W = gramos de la muestra aplicados a la columna

(3, 7, 20, 21, 22, 40, 43, 50, 54, 57, 59, 60, 64)

## R E S U L T A D O S

Se aislaron 518 cepas correspondiendo a los siguientes géneros; Aspergillus 94.4%, Penicillium 75%, Cladosporium 33.33%, Trichoderma 30.55%, Phoma 25%, Alternaria 22.22%, Rhizopus 22.22%, Epicoccum 8.33%, Paecilomyces 2.7%, Verticillium 2.7%, Diplodia 2.7%. (Gráfica No. 1)

Del 100% de las muestras procesadas se obtuvieron recuentos de Unidades Formadoras de Colonias de la siguiente manera; Recuentos Altos ( $10^6$  -  $10^7$  U.F.C./g) 8.33%, Moderados ( $10^4$  -  $10^5$  U.F.C./G) 88.88% y Bajos ( $10^2$  -  $10^3$  U.F.C./g) 2.77% (Gráfica No. 2)

La humedad que favoreció a la producción de hongos fue del 10% (Tabla No. 1).

Se detectaron 54 muestras positivas a aflatoxinas con los siguientes porcentajes relativos a cada aflatoxina en particular; B<sub>1</sub> 58.33%, B<sub>2</sub> 38.88%, G<sub>2</sub> 25% y G<sub>1</sub> 8.33%, con una concentración que varió de 67 a 162 ppb (Gráficas 3 y 4)

La humedad que presentó mayor número de muestras como hongos productores de aflatoxinas, fue del 10% (Gráfica No. 5)

El alimento se clasificó en cuatro grupos, dependiendo de las condiciones de almacenamiento y presentación:

Grupo 1 Alimento elaborado en la granja, almacenado a granel y presentación en polvo.

Grupo 2 Alimento elaborado en la granja, almacenado a granel y presentación en migajas.

Grupo 3 Alimento comercial, almacenado en costal y presentación en polvo.

Grupo 4 Alimento comercial, almacenado en costal y presentación en migajas.

En el Grupo 1 se encontraron dos muestras con las siguientes especies fúngicas; Aspergillus, Penicillium y Fusarium. En una de las muestras se identificó Aflatoxina B<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>, (Gráfica No. 6).

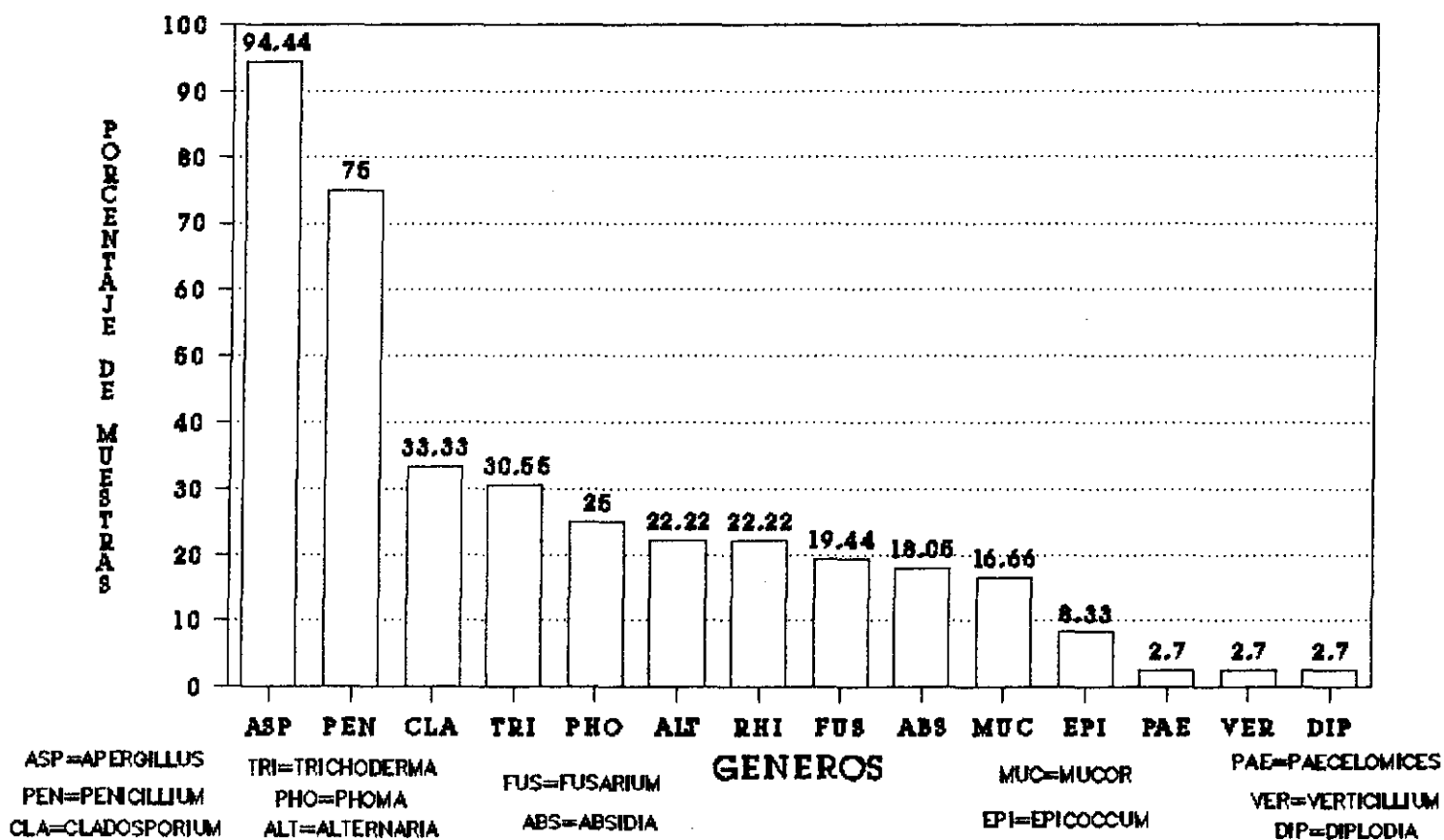
En el Grupo 2 se encontró; Aspergillus, Penicillium, Cladosporium, Fusarium, Alternaria, Trichoderma, Paecilomyces, Epicoccum, Rhizopus, Verticillium, Absidia, Phoma, Mucor y Aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>, (Gráfica No. 7).

En el Grupo 3 se encontró; Aspergillus, Penicillium, Cladosporium, Fusarium, Alternaria, Trichoderma, Epicoccum, Rhizopus, Absidia, Phoma y Aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>, (Gráfica No. 8).

En el Grupo 4 se encontró; Aspergillus, Penicillium, Cladosporium, Fusarium, Alternaria, Trichoderma, Rhizopus, Verticillium, Absidia, Phoma, Mucor y Aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>, (Gráfica No. 9).

GRAFICA No. 1

## FRECUENCIA RELATIVA DE LOS DIFERENTES GENEROS IDENTIFICADOS EN ALIMENTO PARA POLLO DE ENGORDA





GRAFICA No. 2

## RECUENTOS DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS EN ALIMENTO PARA POLLO DE ENGORDA

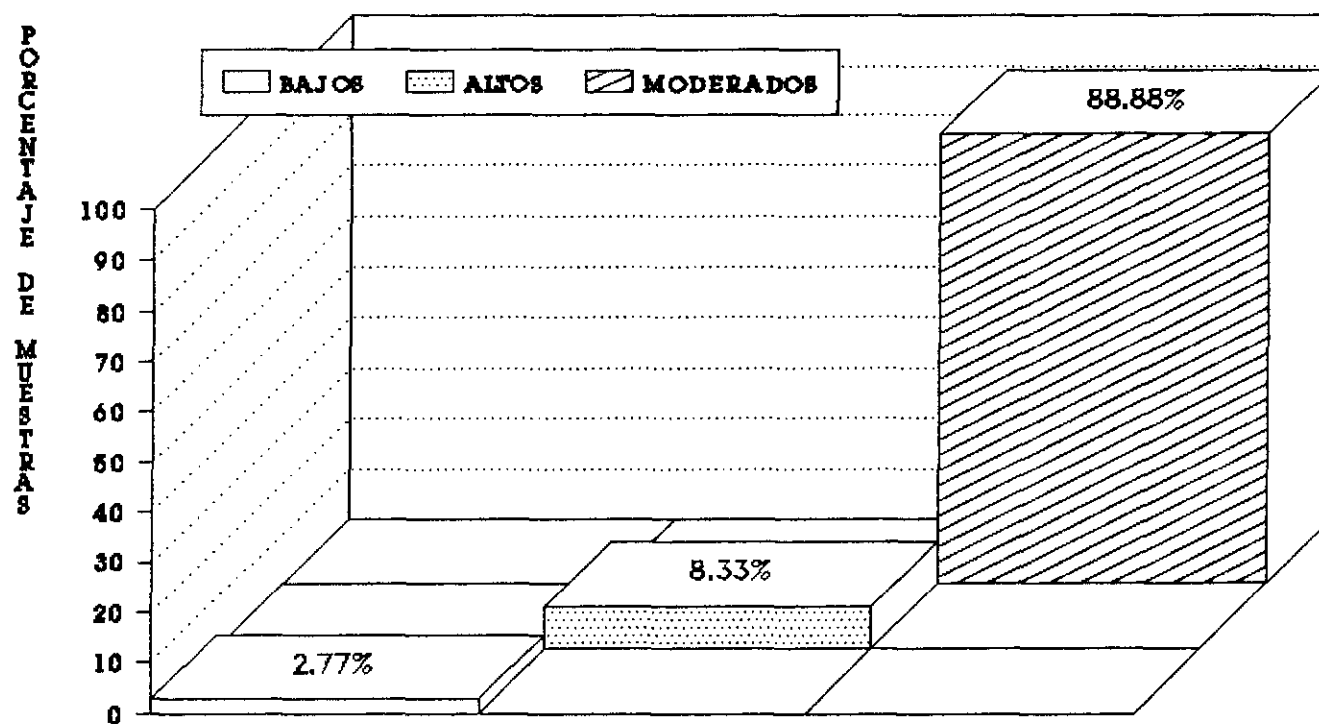


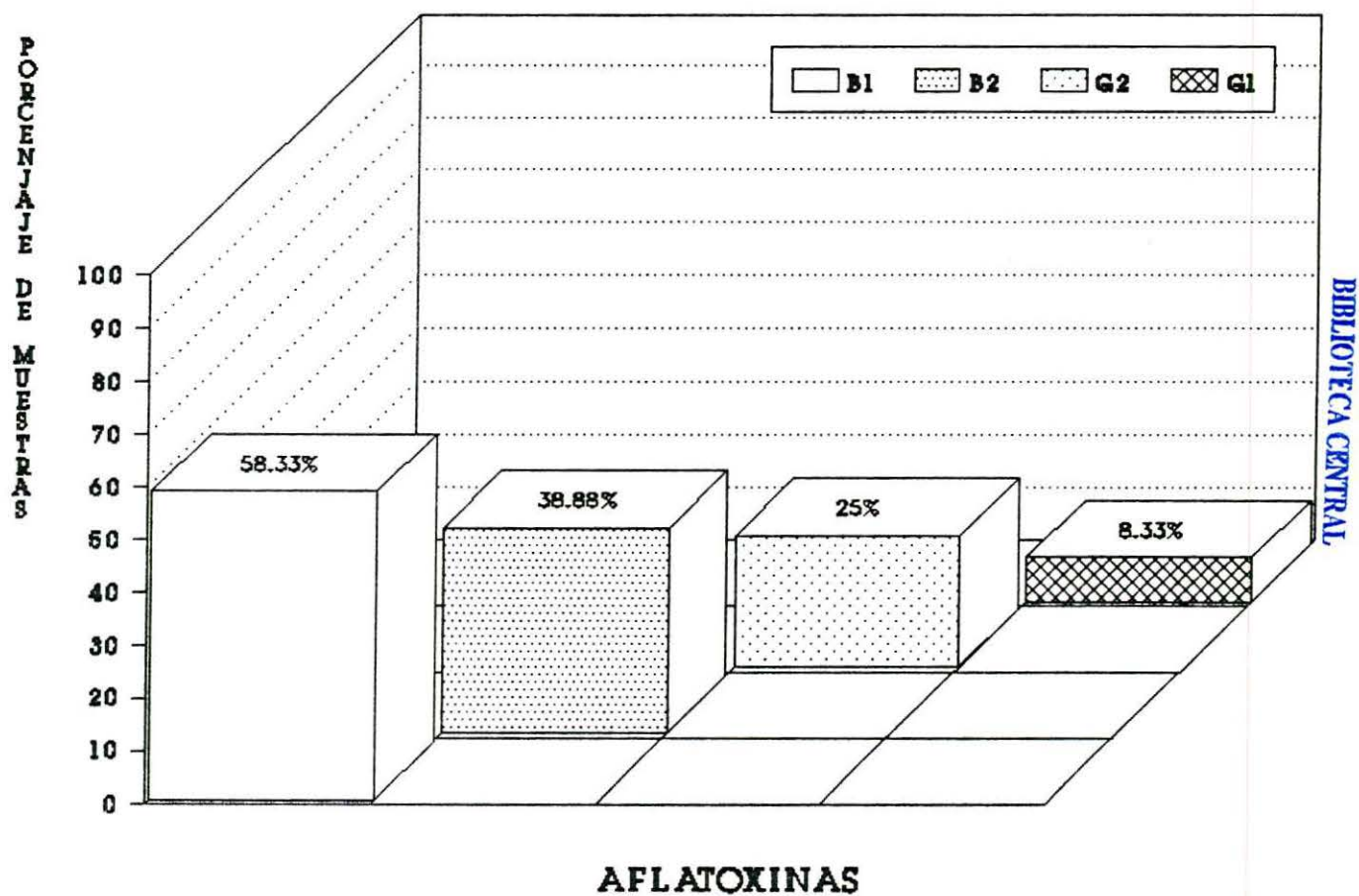
TABLA No. 1

ESPECIES DE HONGOS IDENTIFICADOS EN RELACION A LA HUMEDAD DE LA MUESTRA

E S P E C I E	% H U M E D A D																
	12.5	12	11.3	11.2	11.1	11	10.5	10.3	10.2	10.1	10	9.8	9.7	9.5	9.2	8.9	8
<i>Aspergillus spp.</i>	2	4	2	2	6	2	5	4	6	4	10	2	2	4	8	2	2
<i>Penicillium spp.</i>		4	1	1	4	2	6	2	6	1	8	2	2	2	5	2	2
<i>Cladosporium spp.</i>	1	3	2	1	5		4		1	1	2			1	1		1
<i>Fusarium spp.</i>						1		1	4		1	1	2	1	2		
<i>Trichoderma spp.</i>		1	1		2	1	4	1			6	1	1	1	2		
<i>Rhizopus spp</i>		1		2	3	1	1	1	3		1				3		
<i>Phoma spp.</i>	1	2	2	1	1		2		2		4			1			
<i>Mucor spp.</i>				1	1			1	1	3	1			2			
<i>Alternaria spp.</i>		2					1	1	2	1	1	2		1	2		
<i>Paecilomices spp.</i>												1	1				
<i>Epicoccum spp.</i>								1	2		1		1		2		
<i>Verticillium spp.</i>							1				1						
<i>Absidia spp.</i>		1	1		2	1			2	1				1			1
<i>Diplodia spp.</i>											1			1			
T O T A L	4	18	9	8	24	8	24	12	29	11	37	9	9	15	25	5	8

GRAFICA No. 3

## PRESENCIA DE AFLATOXINAS EN ALIMENTO PARA POLLO DE ENGORDA

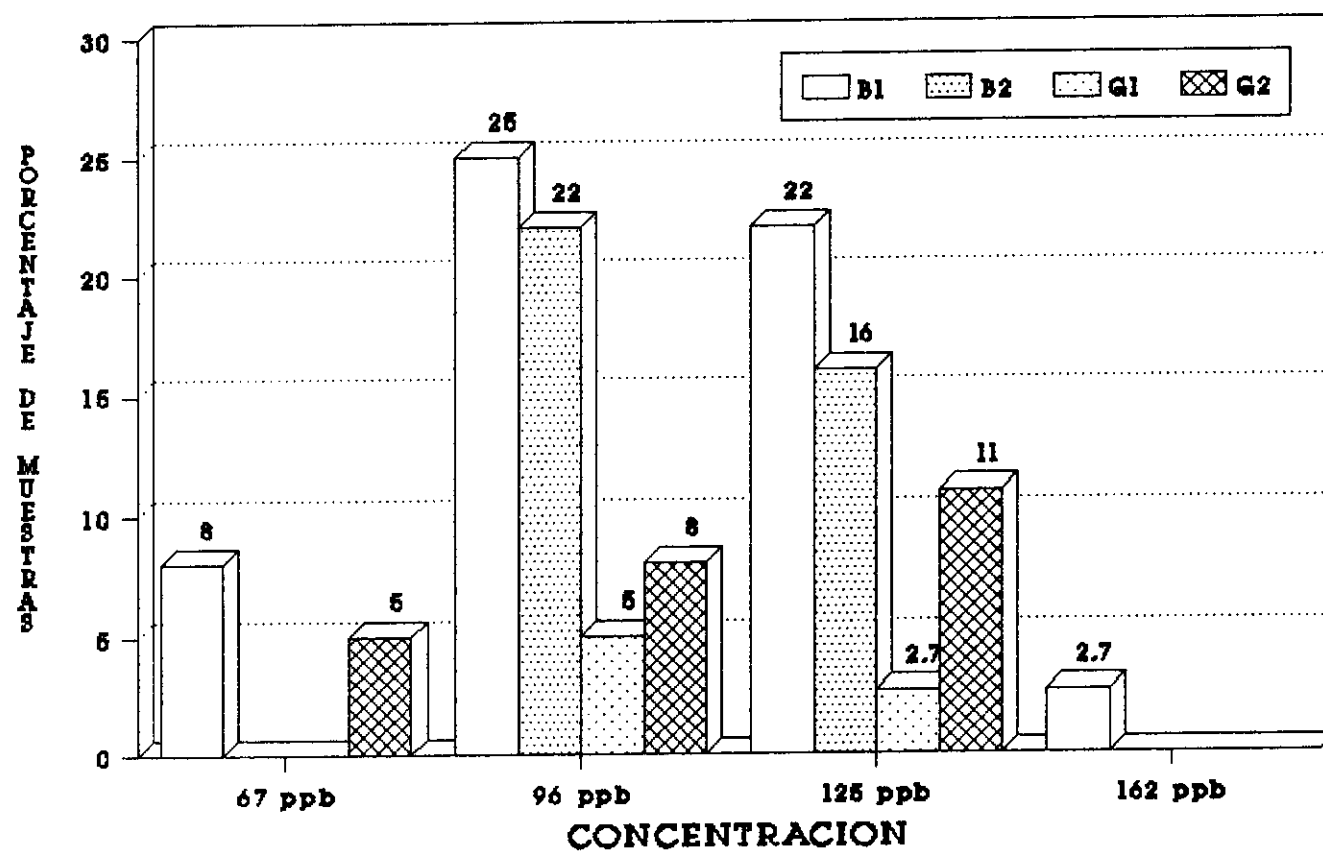


CUCBA

BIBLIOTECA CENTRAL

GRAFICA No. 4

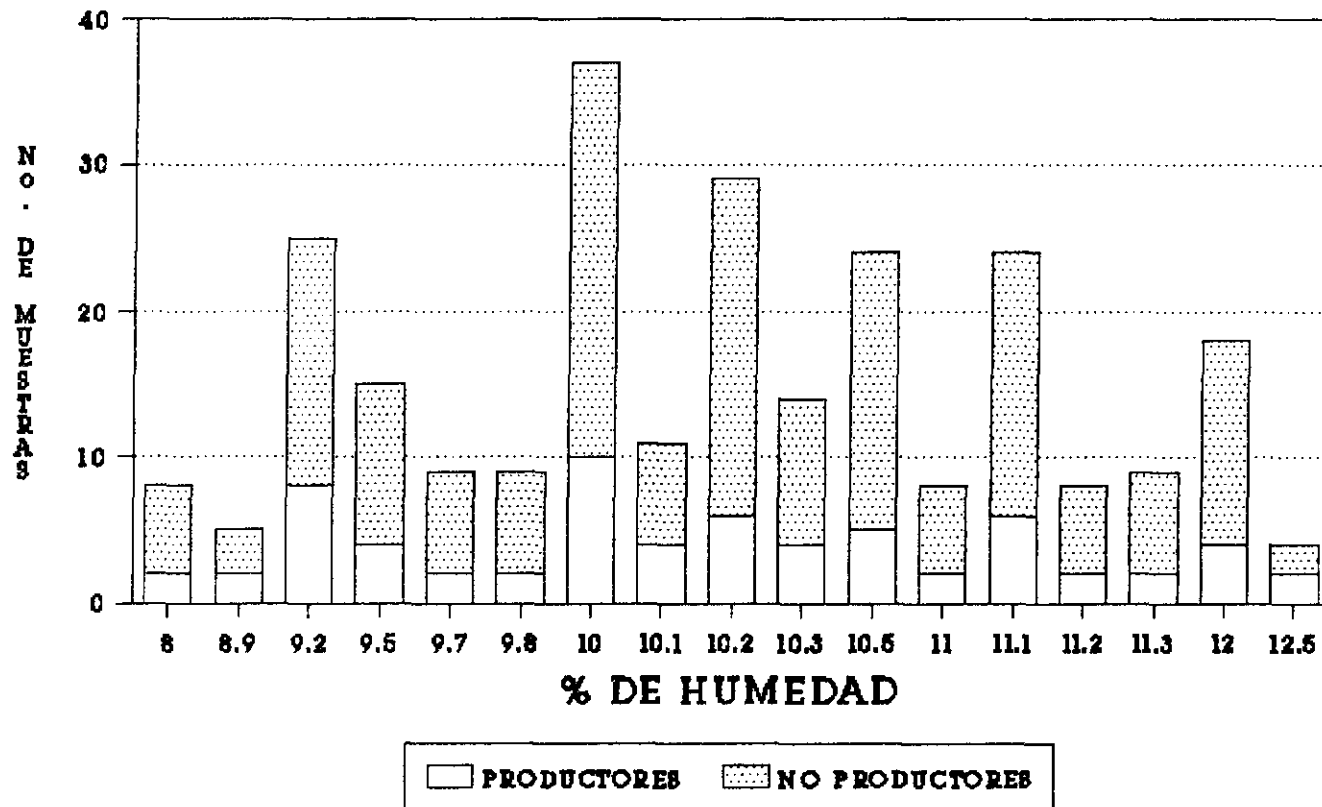
## CONCENTRACION DE AFLATOXINAS EN EL ALIMENTO PARA POLLO DE ENGORDA



ppb = partes por billón

GRAFICA No. 5

### PROPORCION DE HONGOS POTENCIALMENTE TOXIGENICOS (*ASPERGILLUS*) EN RELACION A LA HUMEDAD



**TABLA No. 2**

**FRECUENCIA DE AFLATOXINAS EN EL ALIMENTO  
EN RELACION A SU PRESENTACION Y ALMACENAJE**

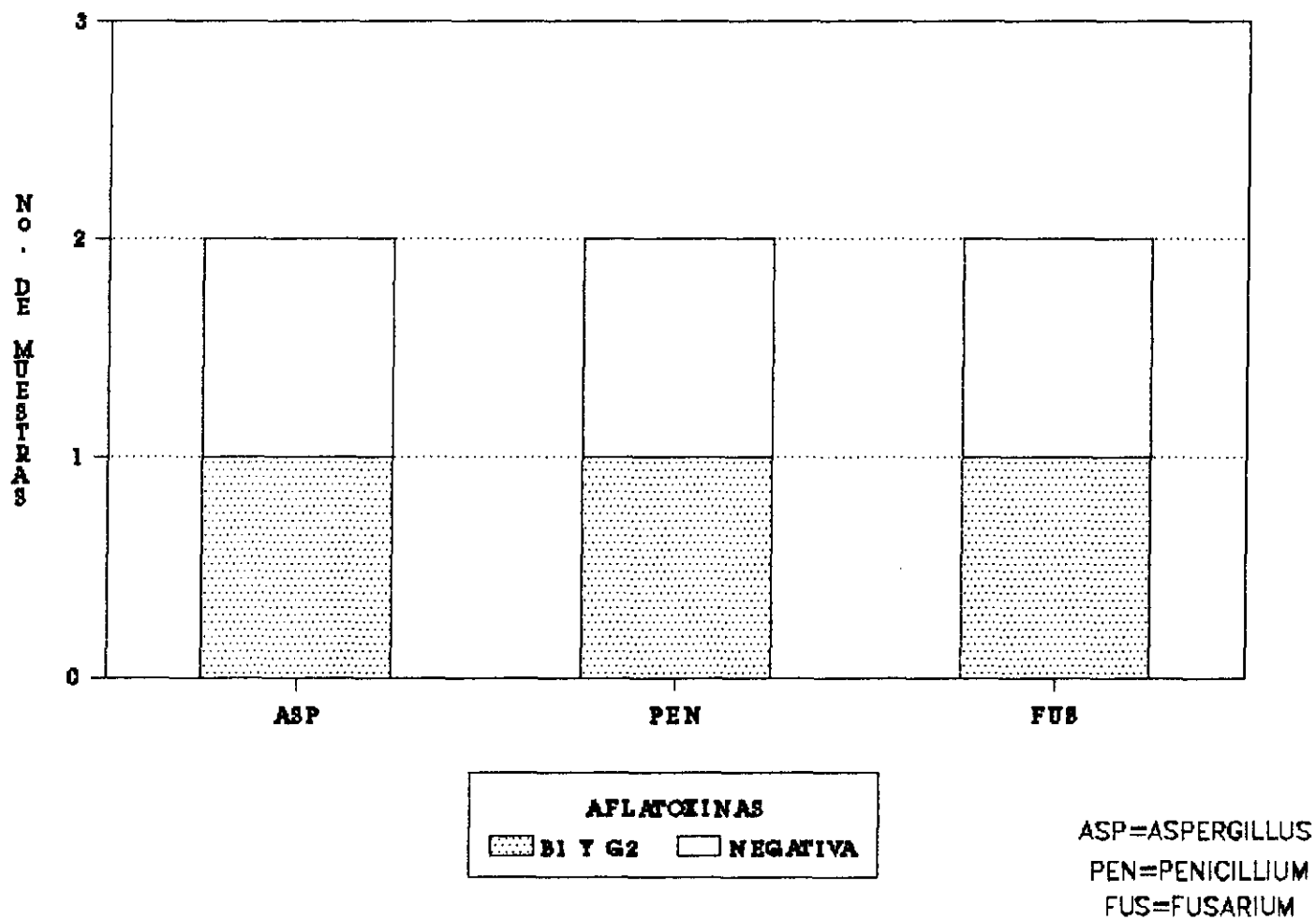
	COMERCIAL				ELABORADO			
	ENCOSTALADO		GRANEL		ENCOSTALADO		GRANEL	
	POLVO	MIGAJAS	POLVO	MIGAJAS	POLVO	MIGAJAS	POLVO	MIGAJAS
B <sub>1</sub>	8	10					1	23
B <sub>2</sub>	6	6						15
G <sub>1</sub>	2	1						3
G <sub>2</sub>	4	4					1	9

BIBLIOTECA CENTRAL



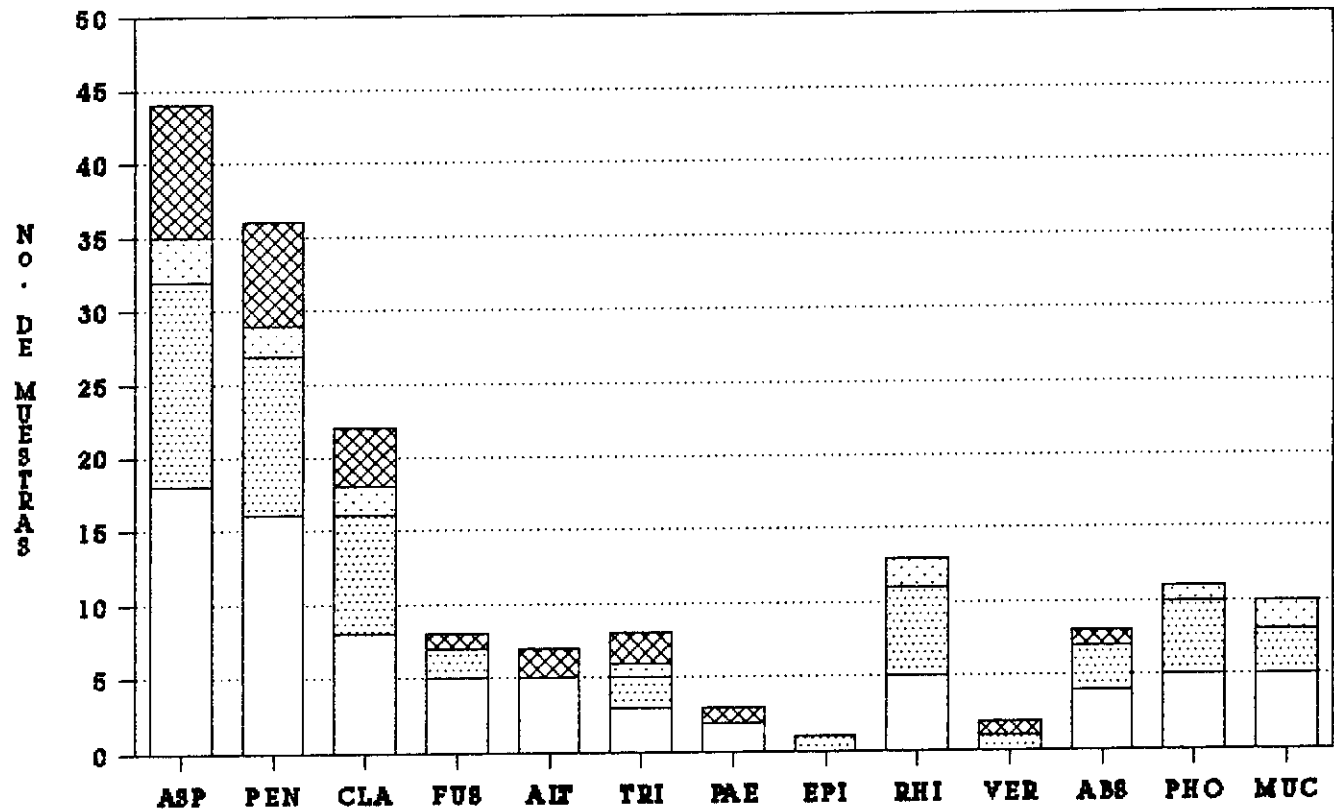
GRAFICA No. 6

### GRUPO No. 1



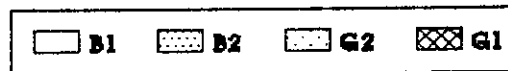
GRAFICA No. 7

GRUPO No. 2



ASP=ASPERGILLUS  
 PEN=PENICILLIUM  
 CLA=CLADOSPORIUM  
 FUS=FUSARIUM

ALT=ALTERNARIA  
 TRI=TRICHODERMA  
 PAE=PAECELOMYCES



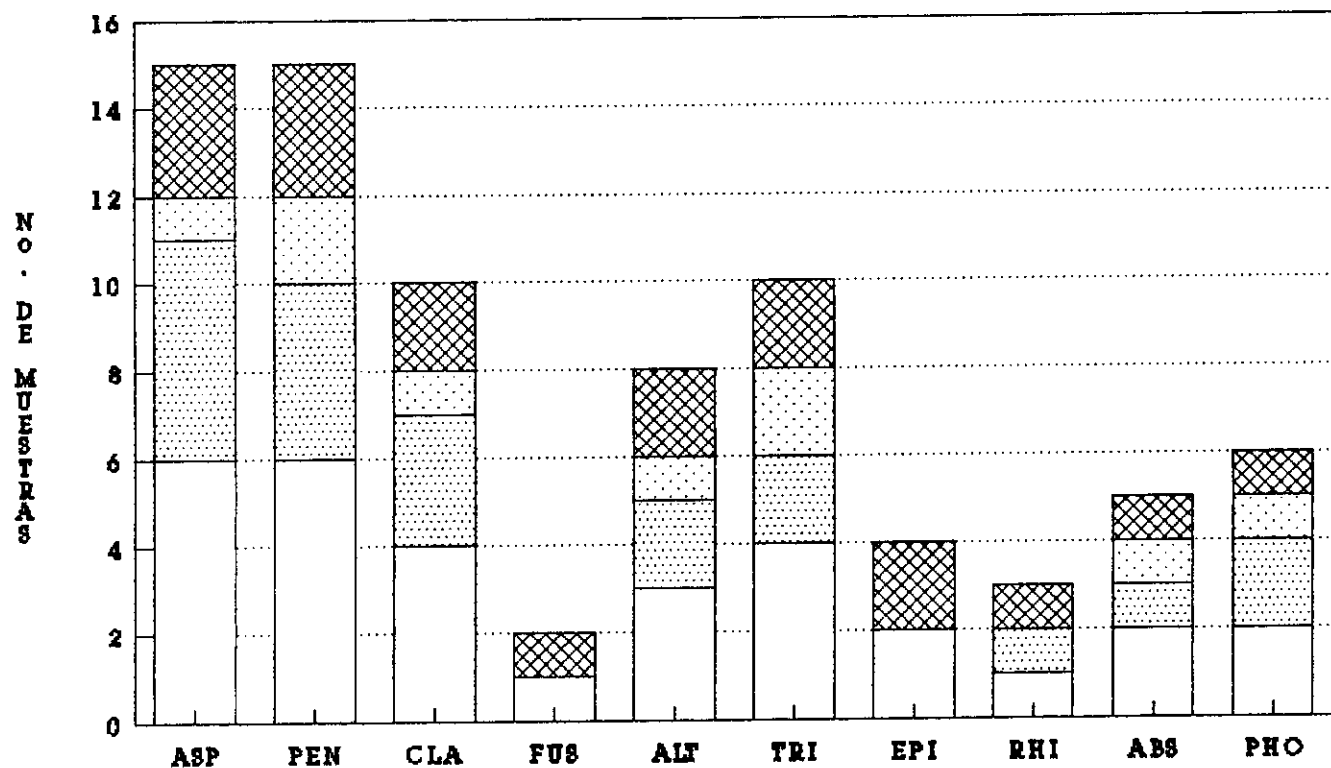
EPI=EPICOCOUM  
 RH=RHIZOPUS  
 VER=VERTICILLIUM

ABS=ABSIDIA  
 PHO=PHOMA  
 MUC=MUCOR



GRAFICA No. 8

GRUPO No. 3



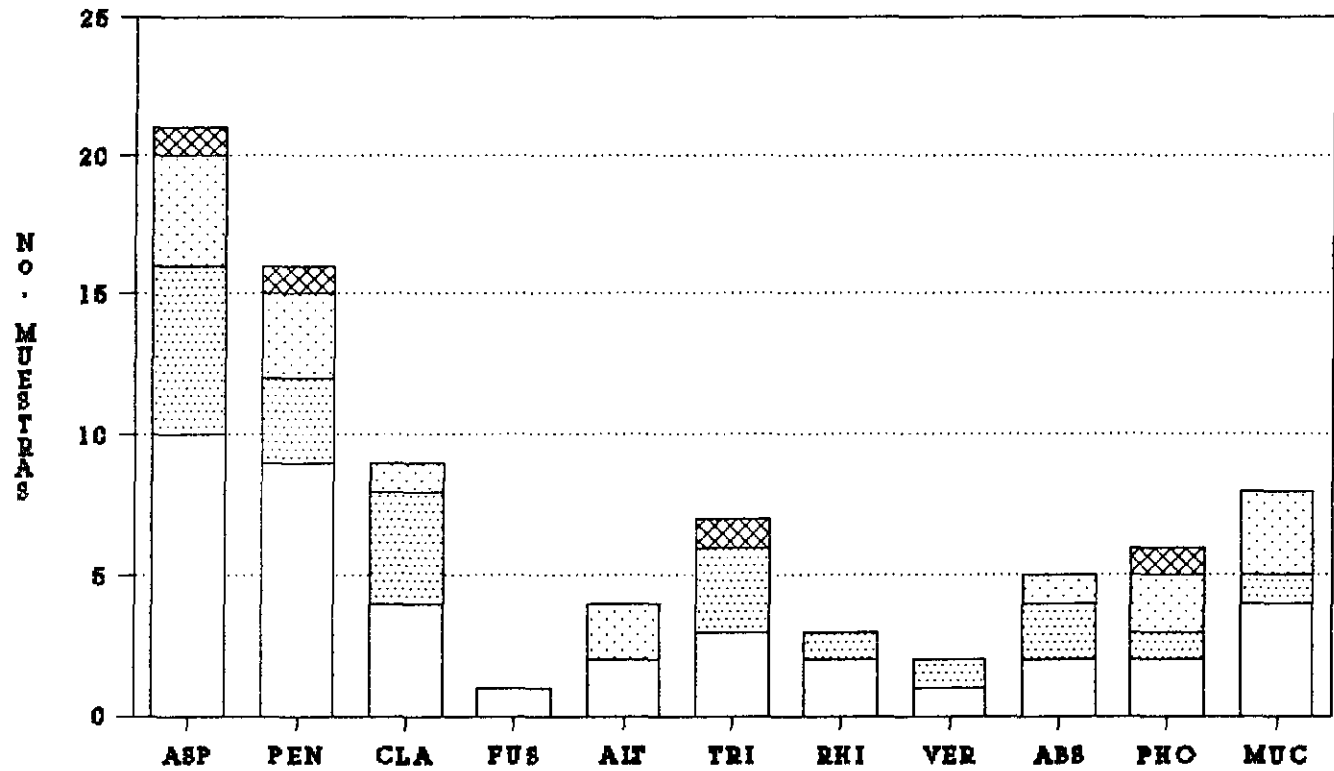
ASP=ASPERGILLUS  
 PEN=PENICILLIUM  
 CLA=CLADOSPORIUM  
 FUS=FUSARIUM  
 ALT=ALTERNARIA

**AFLATOXINAS**  
 B1 B2 G1 G2

TRI=TRICHODERMA  
 EPI=EPICOCOCCUM  
 RHI=RHIZOPUS  
 ABS=ABSIDIA  
 PHO=PHOMA

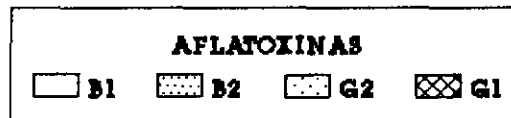
GRAFICA No. 9

GRUPO No. 4



ASP=ASPERGILLUS  
 PEN=PENICILLIUM  
 CLA=CLADOSPORIUM

FUS=FUSARIUM  
 ALT=ALTERNARIA



TRI=TRICHODERMA  
 RHI=RHIZOPUS  
 VER=VERTICILLIUM  
 ABS=ABSIDIA  
 PHO=PHOMA  
 MUC=MUCOR

## D I S C U S I O N

El presente estudio enfocó su atención a las aflatoxinas, por ser consideradas las micotoxinas de mayor importancia en la producción animal. Con este enfoque nos interesó prioritariamente determinar la frecuencia con que los alimentos para aves se encontraban contaminados con hongos del género Aspergillus. Encontramos que prácticamente en la totalidad de las muestras (94.4%) fue posible aislar este tipo de hongo, por lo que pudiera considerarse ubicuitario. En trabajos anteriores se han reportado altos índices de Aspergillus y Penicillium en granos almacenados, en donde 59 especies del género Aspergillus fueron productoras de sustancias tóxicas (51).

Aunque no todas las cepas de Aspergillus sean aflatoxigénicas deben de considerarse en su totalidad como potencialmente toxigénicas, por lo tanto el manejo adecuado de raciones e ingredientes será una de las medidas más eficientes para prevenir la producción de aflatoxinas.

El que se aísle e identifique la cepa de Aspergillus no significa que el alimento esté contaminado con las toxinas, por lo que la producción de este metabolito depende del ambiente. La temperatura óptima para la producción de la toxina no debe

coincidir necesariamente con la temperatura óptima para el crecimiento del hongo. Por ejemplo, la producción de aflatoxinas se lleva a cabo más intensamente entre 28 - 32 °C, sin embargo el crecimiento del hongo se favorece entre 36 y 38 °C. Las aflatoxinas son por lo tanto relacionadas con producción y manejo en climas tropicales y subtropicales (28).

Entre las cepas aisladas con potencial de producción de micotoxinas se encontraron; Penicillium, Cladosporium, Fusarium y Alternaria en frecuencia elevadas. La frecuencia del género Aspergillus en que se encuentra en alimentos es considerable. En trabajos anteriores se ha reportado que en granos almacenados se aislaron cepas fúngicas correspondientes a; Aspergillus, Penicillium y Fusarium (51).

Por razón de la distribución ubicuitaria de los hongos y esporas existe en cualquier momento la posibilidad de una recontaminación.

Para la elaboración de ciertos alimentos, estos son sometidos a tratamientos térmicos, para dar una presentación al producto como en el caso de migajas, que correspondieron al 78% de las muestras estudiadas. Estas al ser sometidas a temperaturas de 82 a 83 °C (180°F) (5), se espera que sus recuentos microbianos sean bajos. Sin embargo se encontró que el 89% de éstas presentaron recuentos moderados, los que son explicables por contaminación secundaria asociada al inadecuado manejo.



El mayor número de muestras presentaron una humedad del 10%, las cuales presentaron especies fúngicas productores de micotoxinas. En investigaciones anteriores se ha determinado que la humedad inferior al 13% presentan un mínimo desarrollo fungal (4). 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 (16).

Muchas esporas tienen la capacidad de germinar en granos con contenido de humedad del 14.5% (aproximadamente el 75% de humedad ambiental en superficie de los granos). Durante el crecimiento se produce humedad ambiental relativa que trae como consecuencia la germinación de otras esporas (27).

La presencia de cepas de Aspergillus en los alimentos, si bien tienen relación con su calidad y podrían ser potencialmente riesgosas, no significa necesariamente que estén presentes las aflatoxinas y viceversa, pueden estar presentes las aflatoxinas sin estar los hongos.

Diferentes condiciones se han demostrado:

- La relación de aflatoxinas B<sub>1</sub> y G<sub>1</sub> no es constante.

- Un gran crecimiento de hongos en alimentos no tienen necesariamente por consecuencia una elevada producción de toxinas.
- Existen sustratos sobre los que crecen bien cepas aflatoxigénicas, sin embargo no producen toxinas.
- Existen sustratos sobre los que crecen cepas productoras de B<sub>1</sub> y G<sub>1</sub> que sin embargo solo producen G<sub>1</sub>.

La aflatoxina identificada con mayor frecuencia es la B<sub>1</sub> (58.3%) lo que coincide con otros trabajos efectuados (1, 29, 33, 44, 45, 52, 58). En el 29% de las raciones para aves muestreadas se comprobó la presencia de aflatoxinas (46). En otros estudios se encontraron 23,000 esporas por gramo de alimento para ave y se identificó, Aspergillus flavus. Se cuantificó la presencia de aflatoxinas, resultando la B<sub>1</sub>: <<0.05 ppm, G<sub>1</sub> 0.05 ppm (53). En Alemania se determinaron criterios para evaluar alimento contaminado con aflatoxinas que va desde débilmente positivas (0 - 0.1 mg/Kg) hasta inútil como alimento para animales (> 2 mg/Kg alimento (8)).

Siguieron en frecuencia decreciente B<sub>2</sub>, G<sub>2</sub> y G<sub>1</sub>. Es necesario enfatizar que la aflatoxina B<sub>1</sub> es la micotoxina más cuestionable desde el punto de vista sanitario. Esta aflatoxina es uno de los agentes carcinogénicos más potentes que existe en la naturaleza, considerada también como; hepatotóxica, mutagénica, y teratogénica. Siendo la G<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y por último la G<sub>2</sub> en donde su toxicidad es menos

aguda que las otras aflatoxinas. Por ejemplo; en el caso de la potencialidad mutagénica que presentan las cuatro aflatoxinas es relación a su porcentaje de actividad: Aflatoxina B<sub>1</sub> 100%, G<sub>1</sub> 3%, B<sub>2</sub> 0.2% y G<sub>2</sub> 0.1% (33, 62, 32)

Las concentraciones de las aflatoxinas encontradas son sumamente elevadas y se pueden considerar en su totalidad fuera de norma. Si bien no existe normatividad al respecto a nivel nacional se considera válido lo recomendado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimento ( FAO ) que fija como límite máximo de aflatoxina la cantidad de 20 ppb. que ha sido adoptado por la mayoría de los países ( 4, 38 ).

Las concentraciones de aflatoxinas variaron de 67 a 162 ppb., por lo que se rebasó de 3.3 a 8 veces la norma internacional.

La composición de microflora de los alimentos cambia constantemente desde la producción hasta su empleo, en dependencia de humedad del substrato, de la humedad ambiental relativa y de la temperatura. Por lo anterior se justifica la clasificación de hongos de campo y hongos de almacenamiento.

En los cuatro grupos de alimento se identificaron hongos de almacén; Aspergillus, Penicillium, Trichoderma, Paecilomices, Rhizopus, Verticillium, Absidia, Phoma y Mucor, estos pueden crecer bajo condiciones en que normalmente se almacenan los granos y las materias primas que se utilizan para la elaboración de alimentos

pecuarios ( 34 ), a la vez se encontraron hongos de campo solo en los grupos 2, 3 y 4; Cladosporium, Fusarium, Alternaria y Epicoccum, estos pueden sobrevivir por años en granos secos, pero mueren rápidamente en granos con un contenido de humedad en equilibrio con humedad relativa superior al 70 % ( 16, 34 ). Encontrando en los cuatro grupos de alimento un mayor número de hongos de almacén. Esto nos revela el inadecuado manejo de estos alimentos.

La frecuencia de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub> vario, aunque no de una manera muy marcada con respecto a los grupos de alimento; el grupo 1 presentó una diferencia marcada en relación al grupo 2, obteniendo mayor número de muestras contaminadas en este grupo. El grupo 4 no presentó diferencia en relación al grupo 3, en ambos grupos se presentaron muestras contaminadas con aflatoxinas.

El grupo que menor número de muestras contaminadas presentaron fue el grupo 1. Las cuatro aflatoxinas pueden estar presentes simultáneamente aunque no necesariamente y sus concentraciones relativas y su presencia pueden variar según la cepa fungal y el substrato. Por ejemplo; Hesseltne ( 1970 ) comprobó que la mayor parte de las cepas fungales que producían aflatoxina G<sub>1</sub> producían también B<sub>1</sub> pero no todas las cepas productoras de aflatoxinas B<sub>1</sub> forman G<sub>1</sub>.



## C O N C L U S I O N E S

Más del 90 % del alimento para pollo de engorda incluido en este estudio se encontró contaminado con hongos productores de aflatoxinas y en más del 70 % se demostró la presencia de aflatoxinas.

El que se aisle e identifique la cepa de Aspergillus no significa que el alimento este contaminado con las toxinas, por que la producción de este metabolito depende de las condiciones ambientales.

El alimento que es sometido a temperaturas elevadas ( 82 a 83 °C. ) contienen recuentos microbianos moderados en un 89 %, los que son explicables por contaminación secundaria asociada a un inadecuado manejo y a una distribución ubicuitaria de los genos y esporas.

La humedad del 10 % contenida en el alimento aunada a la temperatura cálida del verano y otoño de la zona metropolitana de Guadalajara, representan factores óptimos para el desarrollo fúngico.

Las concentraciones de las aflatoxinas encontradas son sumamente elevadas y se consideran en su totalidad fuera de norma.

Los cuatro grupos de alimento presentaron tanto hongos de campo y de almacén, estos últimos en mayor número. Además la presencia de aflatoxinas en estos alimentos nos revela el inadecuado manejo de los mismos.

## B I B L I O G R A F I A

- 1.- ABRAMSON D.J., R.N. SINHA., T. MILLS. 1982 MYCOTOXIN FORMATION IN MOIST WHEAT UNDER CONTROLLED TEMPERATURES. MYCOPATHOLOGIA 79 87 - 92
- 2.- ANTILLON-RONDA A., C. LOPEZ-CERDILLO., 1987. ENFERMEDADES NUTRICIONALES DE LAS AVES. EDITADO POR LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO. PAG. 56, 63, 70
- 3.- ALANIZ DE LA O. RICARDO; SIGURD FUNDER. 1968. PRACTICAL MYCOLOGY MANUAL FOR IDENTIFICATION OF FUNGI. HIFNER PUBLISHING COMPANY, INC.
- 4.- AVILA G. ERNESTO., SHIMADA S. ARMANDO., GERARDO LLAMAS. 1990. ANABOLICOS Y ADITIVOS EN LA PRODUCCION PECUARIA.
- 5.- BEHNKE KEITH C. 1992 FACTORES QUE AFECTAN LA CALIDAD DEL PELET. ASOCIACION AMERICANA DE SOYA N° 103 PAG. 1 - 11.
- 6.- BEUCHAT R.L. 1979. FOOD AND BEVERAGE MYCOLOGY, ASSOCIATE PROFESSOR. DEPARTAMENT OF SCIENCE AGRICULTERAL EXPERIMENT. UNIVERSITY OF GEORGIA, PAG. 431-432

- 7.- BOLETIN SARH., 1988. INVESTIGACION SOBRE EL " RELAMPAGO " EN CABALLOS. BOLETIN SARH. COMISION MEXICO-AMERICANA PARA LA PREVENCION DE FIEBRE AFTOSA. DIRECCION GENERAL DE SANIDAD Y PROTECCION AGROPECUARIA Y FORESTAL. No. 25 PAG. 32,33,34.
- 8.- BUNTENKÖHER S. 1973. BEDEUNTUNG DER AFLATOXINE IN DER TIERERNÄHRUNG ÜBERS TIERERNÄHRUNG 1, 233 - 254
- 9.- BOLETIN SARH., 1988. INVESTIGACION EPIDEMIOLOGICA EN JALISCO " RELAMPAGO " BOLETIN SARH. COMISION MEXICO-AMERICANA PARA LA PREVENCION DE LA FIEBRE AFTOSA. DIRECCION GENERAL DE SANIDAD Y PROTECCION AGROPECUARIA Y FORESTAL No. 26 PAG. 24
- 10.- B. SARH., 1988 BROTE DE " RELAMPAGO " POR ENVENENAMIENTO CON MAIZ CONTAMINADO POR HONGOS. BOLETIN SARH. COMISION MEXICO-AMERICANA PARA LA PREVENCION DE LA FIEBRE AFTOSA. DIRECCION GENERAL DE SANIDAD Y PROTECCION AGROPECUARIA Y FORESTAL No. 27 PAG. 28
- 11.- BUENO L., O. DIA MOYA., C. GARCIA 1989. PERDIDA DE MATERIA SECA EN EL MAIZ PROVOCADO POR MOHOS. TECNOLOGIA CUBANA. PORCICULTURA MEXICANA. AÑO 1 No. 1
- 12.- BURROUGHS M.J. 1986. AFLATOXINAS Y AFLATOXICOSIS GRANDES PREOCUPACIONES PARA LOS FABRICANTES DE ALIMENTOS ASA/MEXICO. DEPARTAMENTO DE CIENCIAS E INDUSTRIA DE LOS GRANOS DEL ESTADO DE KANSAS No. 39 PAG. 1, 2

- 13.- CASTILLO-AVENDAÑO A., J.I. SANCHEZ., R.ROSILES MARTINEZ.,  
1983. CARACTERISTICAS FISICAS Y NIVELES DE AFLATOXINAS B1 EN  
GALLINAZA Y POLLINAZA DE GRANJAS DE TEXCOCO ESTADO DE  
MEXICO.
- 14.- CASTILLO TOVAR J., 1987. MICOLOGIA GENERAL. EDITORIAL LIMUSA  
MEXICO PAG. 38, 39.
- 15.- CAMPOS NIETO., 1978. AFLATOXINA B1 COMO CAUSA DE ABORTO EN  
CERDAS. PORCIRAMA AÑO 8 VOL. VIII No.19 JULIO 26 PAG. 5, 6
- 16.- CHRISTENSEN CLYDEM., HENRY H. KAUFMAN 1976. CONTAMINACION POR  
HONGOS ALMACENADOS. ED. PAX-MEICO REP. ARGENTINA PAG. 35
- 17.- COTTRAL, GEORGE E., 1978. MANUAL DE METODOS ESTANDARIZADOS EN  
MICROBIOLOGIA VETERINARIA EDICIONES CIENTIFICAS. LA PRENSA  
MEDICA MEXICANA S.A. PAG. 584, 585, 586, 587.
- 18.- DEACON J.W. 1988. INTRODUCCION A LA MICOLOGIA MODERNA  
EDITORIAL LIMUSA, PAG. 150, 151, 152
- 19.- ESTRADA CAMUÑEZ JOSE. 1970. LAS MICOSIS O FUNGOSIS EN  
MEDICINA VETERINARIA. EDITORIAL JIMS BARCELONA, PAG. 100 -  
126
- 20.- FERNANDEZ ESCARTIN, 1981. MICROBIOLOGIA SANITARIA AGUA Y  
ALIMENTOS VOL. I UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA PAG. 109-140.

- 21.- GARCIA AGUIRRE GENOVEVA., 1989 MANUAL DE METODOS PARA EL ANALISIS DE MICOTOXINAS EN GRANOS. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO PAG. 13-64
- 22.- GUZMAN DE PEÑA D., ANGUIANDO R.G.L. 1989. EVALUACION DE LA EFICIENCIA DE TRES METODOS ANALITICOS PARA LA DETERMINACION DE AFLATOXINAS. TEC. ALIMENT. MEX. VOL 23. No. 2 PAG. 24 - 27
- 23.- GUZMAN DE PEÑA D. , 1989. MICOTOXINAS EN EL BAJIO GUANAJUATENSE. AVANCE Y PERSPECTIVA No. 40 VOL. 8 PAG.15,16,17
- 24.- GONZALEZ-CANDELAS H., 1970. LA AFLATOXICOSIS EN EL POLLO DE ENGORDA E IMPORTANCIA DE SU DIAGNOSTICO HISTOPATOLOGICO. FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA. TESIS No. 17.
- 25.- HAMILTON B. O., 1982. EFECTOS Y CONTROL DE LAS MICOTOXINAS. DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AVICOLAS UNIVERSIDAD DEL ESTADO DE CAROLINA DEL NORTE.
- 26.- HEATHCOTE J.G., J.R. HIBBERT. 1978. AFLATOXINS CHEMICAL AND BIOLOGY ASPECTS. ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHING COMPANY. PAG. 3, 4 CAP. 3
- 27.- HESSELTINE C.W. 1976. INTERACTIONS OF MYCOTOXINS IN ANIMAL PRODUCTION NATIONAL ACADEMY OF SCEINCES THE NATIONAL RESEARCH CONCIL PAG. 3 - 19.

- 28.- LEIBETSEDER J., 1981 MYKOTOXIKOSEN TIERERNÄHRUNG. 9, PAG. 1-10
- 29.- LIN Y. C., J.C. AYRES., P.E. KOEHLER. 1980 INFLUENCE OF TEMPERATURE CYCLING ON THE PRODUCTION OF AFLATOXINS B<sub>1</sub> Y G<sub>1</sub> BY ASPERGILLUS PARASITICUS APPLIED AND ENVIROMENTAL MICROBIOLOGY. VOL. 40 N° 2 PAG. 333 - 336
- 30.- LINDNER E., TOXICOLOGIA DE LOS ALIMENTOS ED. ACRIBIA ZARAGOZA ESPAÑA. PAG. 83 - 85
- 31.- LIETZ PETER., HANS-DIETER MUNCH., 1981. MICROBIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS VEGETALES. EDITORIAL ACRIBIA ZARAGOZA
- 32.- MIROCH C.J. 1990 AFLATOXINAS: QUIMICA, METABOLISMO Y SUS EFECTOS EN LA SALUD ANIMAL. AVIRAMA AÑO 8 VOL. XII N° 87 PAG. 52 - 55
- 33.- MILLER BRINTON M. 1987. TYPES OF AFLATOXINS MYCOTOXIN TECHNICAL REPORT N° 10 AN "A" SERIES.
- 34.- MORENO-MARTINEZ E., 1988 MANUAL PARA LA IDENTIFICACION DE HONGOS EN GRANJAS Y SUS DERIVADOS. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO. PAG. 14, 18, 25, 33 - 39

- 35.- MORENO MARTINEZ E. 1989 HONGOS Y MICOTOXINAS EN GRANOS ALMACENADOS. CURSO DE ACTUALIZACION SOBRE MICOTOXICOSIS AVIAR ASOCIACION NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN CIENCIAS AVICOLAS DE MEXICO (ANECA) PAG. 23, 29, 31, 32
- 36.- MOSSEL D.A.A., B. MORENO GARCIA. 1975. MICROBIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS ED. ACRIBIA S.A. ZARAGOZA (ESPAÑA) PAG. 30, 36
- 37.- NORTH MARCK O., 1982. MANUAL DE PRODUCCION AVICOLA. ED. MANUEL MODERNO S.A. C.V. MEXICO D.F. CAP. 38.
- 38.- OCAMPO LUIS DR. 1979 - 1983. REGLAMENTO DE MICOTOXINAS EN LOS E.U.A. MEMORIAS DEL 1er SIMPOSIO SOBRE ALMACENAMIENTO DE GRANOS.
- 39.- OSUNA-SUAREZ O., 1989. CURSO DE ACTUALIZACION SOBRE MICOTOXICOSIS AVIAR. ASOCIACION NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN CIENCIAS DE MEXICO "ANECA" CALIDAD PARA LA PRODUCCION MEXICO, D.F.
- 40.- ONIONS A.H.S., D. ALLSOPP., H.O.W.EGGINS. 1981 SMITH'S INTRODUCTION TO INDUSTRIAL MYCOLOGY SEVEN EDITION. EDWARD ARNOLD



- 41.- O.P.S. 1979. CRITERIOS DE SALUD AMBIENTAL II MICOTOXINAS.  
ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD PUBLICA. CIENTIFICA No.  
453 PAG. 4, 11, 19, 20, 35
- 42.- PEREZ MIRAVETE ADOLFO DR. TECNICAS PARA EL MUESTREO Y  
ANALISIS MICROBIOLOGICOS DE ALIMENTOS. SECRETARIA DE  
SALUBRIDAD Y ASISTENCIA. DIRECCION GENERAL DE INVESTIGACION EN  
SALUD PUBLICA. CAPITULO IX
- 43.- PIOJA A.C. ROBERTO CERVANTES O., MANUAL DE MICOLOGIA  
VETERINARIA. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO. PAG. 1-6
- 44.- PERAZA CARLOS DR., LA AFLATOXICOSIS EN LAS AVES DOMESTICAS.  
ASOCIACION NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN CIENCIAS AVICOLAS  
(ANECA) PAG. 2 - 12
- 45.- PHELPS RICHARD A. 1991. MYCOTOXIN CONTAMINATION IN  
RUMINANTRATIONS: A REVIEW FEEDSTUFFS VOL. 63 N° 20, PAG 11
- 46.- RANLT. 1972. AFLATOXINE IN FUHERMIHELN KRAFTFUHER 55, 536-538
- 47.- REHRER N.J., A.B. BOBIN., 1982, METABOLIC EFFECTS OF LOW  
AFLATOXIN B1 LEVELSON BROILER CHICKS. APPLIED ENVIROMENTAL.  
MICROBIOLOGY VOL.45 No. 3

- 48.- ROSILES-MARTINEZ R., R. LOPEZ. 1977. SINDROME ESTROGENICO DE ORIGEN ALIMENTICIO EN CERDOS. VETERINARIA (MEXICO). 8: 123-126.
- 49.- ROMOSER LYNN G., 1978. PREVENTION OF MOULD AND YEAST GROWTH IN POULTRY FEED. POULTRY INTERNATIONAL PAG. 56
- 50.- SAMSON ROBERT A., ELLEN S. HOEKSTRA., CONNIE A.N., VAN OORSCHOT. 1984. INTRODUCTION TO FOOD-BORNE FUNGI. CENTRA ALBUREAU VOOR SHCIMMEL CULTURES.
- 51.- SANCHIS V., I. VIÑAS., M. JIMENEZ., M.A. CALVO., E. HERNANDEZ. 1982. MYCOTOXIN-PRODUCING FUNGI ISOLETED FROM BIN-STORED CORN. MYCOPATHOLOGIA 80. 89 - 93.
- 52.- SCOTT P.M. 1984. EFFECTS OF FOOD PROCESSING ON MYCOTOXINS. JORNAL OF FOOD PROTECTION VO. 47 N° 6 PAG. 489-499
- 53.- SCHOTS J., R. MOTZ. 1967 TOXININBILDENDE A. FLAVUS. STÄME IN FUHERMIHELN ARCH. EXPER. MED.VET. 21, 129-140
- 54.- SMITH GEORGE., HAROLD RAISTRICK. 1963. INTRODUCCION A LA MICOLOGIA INDUSTRIAL. EDITORIAL ACRIBIA ZARAGOZA (ESPAÑA) PAG. 23 - 40

- 55.- T.A., 1988 MICOTOXICOSIS EN AVES. TECNOLOGIA AVIPECUARIA.  
AÑO III VOL.V No.3 PAG 54, 61, 62.
- 56.- T.A. 1988. MICOTOXICOSIS EN CERDOS. TECNOLOGIA AVIPECUARIA  
AÑO III VOL.V No. 4 PAG. 81, 86.
- 57.- T.A. 1988. EVALUACION CUANTITATIVA DEL DESARROLLO DE HONGOS  
EN ALIMENTO Y EN LOS GRANOS. AVICULTURA PROFESIONAL. VOL.6  
No. 2 PAG. 40 - 42
- 58.- T.A. 1977. MUTANT OF ASPERGILLUS FLAVUS PRODUCING MORE  
AFLATOXIN B<sub>2</sub> THAN B<sub>1</sub>. APPLIED AND ENVIROMENTAL MICROBIOLOGY  
VOL 33 N° 1 PAG 206.
- 59.- TEJADA DE HERNANDEZ IRMA., BONIFACIO CARRASCO. 1990. MANUAL DE  
TECNICAS DE INVESTIGACION EN RUMIANTES. LA TOMA DE MUESTRAS SU  
CONSERVACION Y ENVIO AL LABORATORIO. SISTEMA DE EDUCACION  
CONTINUA EN PRODUCCION ANIMAL EN MEXICO. PAG. 1-6
- 60.- TEJADA DE HERNANDEZ IRMA. 1985. MANUAL DE LABORATORIO PARA  
ANALISIS DE INGREDIENTES UTILIZADOS EN LA ALIMENTACION  
ANIMAL, PAG. 339-350.
- 61.- TUFF W.E., C.F. CHANG., WARREN, P.B. HAMILTON., 1978  
OCHRATOXIN A INDUCED IRON DEFICIENCY ANEMIA VOL.37 No. 3

- 62.- T. LOTE RICHARD., RICHARD H. LOT. 1981. THE AFLATOXINS.  
HOMBOOK OF TOXIC FUNGAL METABOLITES PAG. 1 - 45
- 63.- VOIGT-MICHAEL N.J., J. DERRELL., J. AYRES. 1981.  
CONCENTRACIONES ANORMALES DE VITAMINAS "B" EN BILIS DE  
CONEJO CON AFLATOXINAS. APPLIED AND ENVIROMENTAL MICROBIOLOGY  
VOL.41 No. 4
- 64.- WILLIAMS-SIDNEY., 1984. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF THE  
ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. CHAPTER 26.
- 65.- WYATT ROGER D.1983. ANALISIS DE MICOTOXINAS, LOS PASOS CLAVE.  
AVICULTURA PROFESIONAL VOL. 1 No. 3 PAG. 76, 77