

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**DETERMINACIÓN DE AFLATOXINAS, DEOXINIVALENOL, FUMONISINAS,  
OCRATOXINAS Y ZEARALENONA EN LAS VARIEDADES DE MAÍZ UDG 600,  
601 Y 602 COSECHADAS EN CUATRO LOCALIDADES DEL ESTADO DE  
JALISCO**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO  
DE MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**PRESENTAN:**

**CLAUDIA ROSARIO OLVERA GÚITRÓN**  
**MÓNICA VILLARRUEL NAVARRO**

**DIRECTORA DE TESIS:**

**DRA. WALDINA PATRICIA REYES VELÁZQUEZ**

**ASESORES:**

**DRA. SILVIA RUVALCABA BARRERA**

**DR. AGUSTÍN RAMÍREZ ÁLVAREZ**

## CONTENIDO

	Página
Agradecimientos .....	i
Lista de Tablas .....	iv
Lista de Figuras .....	vi
Resumen .....	vii
I INTRODUCCIÓN .....	1
I.1. Género <i>Aspergillus</i> .....	2
I.1.1. Aflatoxinas .....	2
I.2. Género <i>Penicillium</i> .....	6
I.2.1. Ocratoxina .....	7
I.3. Género <i>Fusarium</i> .....	11
I.3.1. Fumonisinás .....	12
I.3.2. Tricotecenos .....	18
I.3.2.1. Deoxinivalenol. ....	21
I.3.3. Zearalenona .....	23
I.4. Impacto económico social de las micotoxinas .....	26
I.5. Prevención y control de micotoxinas .....	27
I.6. Métodos de eliminación de micotoxinas en productos Agrícolas ..	30
I.7. Metodología analítica para detección de micotoxinas. ....	32
I.8. El Maíz ( <i>Zea mays</i> ) en México .....	34
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	39
III. JUSTIFICACIÓN .....	40

IV. HIPÓTESIS .....	41
V. OBJETIVOS .....	42
VI. MATERIALES Y MÉTODOS .....	43
VII. RESULTADOS .....	47
VIII. DISCUSIÓN .....	63
IX. CONCLUSIONES .....	71
X. BIBLIOGRAFÍA .....	72

## AGRADECIMIENTOS

### **A Dios:**

Por quien soy participe de este mundo y al que contribuiré con los conocimientos adquiridos. Por permitirme llegar a ésta, una de mis metas... gracias.

### **A nuestros padres:**

Gonzalo A. Olvera Díaz  
Ma. del Rosario Güitron Partida

Francisco Villarruel Gómez  
Aurora Navarro Gutierrez

Con mucho cariño, admiración y respeto, por que a base de sacrificios y esfuerzos nos motivaron a superarnos y con su ayuda fue posible lograr esta meta anhelada.

### **A nuestros hermanos:**

Gonzalo Olvera Güitron  
Marisol Olvera Güitron

Oscar Villarruel Navarro  
Rocio Villarruel Navarro

De quines nos sentimos muy orgullosas y afortunadas de ser sus hermanas.

### **A nuestros amigos:**

Que con su aliento entusiasta de apoyo y confianza me brindaron la luz de la amistad y esperanza de seguir adelante.

Enrique Santana Flores.  
Mario Antonio Flores Arámbula.

Con profundo amor, cariño y respeto te agradezco tu gran apoyo en las adversidades de la vida.

**Directora de tesis:**

Dra. Waldina Patricia Reyes Velázquez

Por el apoyo brindado en la realización de la tesis, además de formarnos en un área nueva de investigación, compartiendo sus conocimientos y por brindarnos su incondicional apoyo y amistad.

**Asesores:**

Dra. Silvia Ruvalcaba Barrera.

Por su apoyo en el asesoramiento de la tesis y ayuda en el análisis estadístico de los datos, así como su invaluable apoyo y amistad.

Dr. Agustín Ramírez Álvarez, Jefe del Departamento de Salud Pública.

Por su valioso apoyo durante el desarrollo de la tesis.

**H. Jurado:**

M.C. Delia Guillermina González Aguilar

M.C. Patricia Landeros Ramírez

M.C. Manuel Galindo Torres

Por su disponibilidad para formar parte de nuestro jurado y por sus aportaciones durante la revisión de la tesis.

**Instituciones**

Universidad de Guadalajara

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. División de Ciencias Veterinarias.

El área de Micotoxicología del Departamento de Salud Pública, CUCBA.

Por su apoyo con instalaciones, equipo y material para realizar los experimentos de laboratorio.

## LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Niveles máximos de micotoxinas toleradas en los cereales y en alimentos a base de maíz para consumo animal . . . . .	29
2. Producción Agrícola y Pecuaria en Acatic, Ameca, Ixtlahuacán de los Membrillos y Villa Corona, Jalisco . . . . .	38
3. Características de tres variedades de híbridos de alto rendimiento de maíz ( <i>Zea mays</i> ) . . . . .	38
4. Niveles de concentración de DON en maíz de 4 localidades del estado de Jalisco . . . . .	47
5. Concentración de DON en tres variedades de maíz cosechadas en el estado de Jalisco . . . . .	48
6. Niveles de Fumonisinás detectados en maíz de 4 localidades del estado de Jalisco . . . . .	50
7. Niveles de fumonisinás en tres variedades de maíz cosechadas en el estado de Jalisco . . . . .	51
8. Presencia de Ocratoxinas en maíz de 4 localidades del estado de Jalisco . . . . .	52
9. Detección de Ocratoxinas en tres variedades de maíz cosechadas en el estado de Jalisco . . . . .	53
10. Niveles de Zearalenona detectados en maíz de 4 localidades del estado de Jalisco . . . . .	54
11. Detección de Zearalenona en tres variedades de maíz cosechadas en el estado de Jalisco . . . . .	55
12. Niveles de micotoxinas en las tres variedades de maíz estudiadas. . . . .	57
13. Niveles de concentración de micotoxinas en las diferentes variedades de maíz y localidades estudiadas en el estado de Jalisco . . . . .	58
14. Niveles de micotoxinas presentes en el maíz de las localidades estudiadas . . . . .	59

## Tabla

## Página

- |  |    |
|--|----|
| 15. Temperaturas registradas en Acatic, Ameca, Ixtlahuacán de los Membrillos y Villa Corona durante el ciclo primavera-verano 1997 . . . . . | 60 |
| 16. Precipitación pluvial acumulada (mm) durante el ciclo primavera – verano 1997 . . . . .  | 62 |



## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Estructuras químicas de las aflatoxinas B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> y G <sub>2</sub> . . . . .	4
2. Estructura química de la ocratoxina A . . . . .	8
3. Estructura química de las fumonisinas de la serie A, B y C purificadas de maíz contaminado con <i>F. verticillioides</i> . . . . .	14
4. Clasificación de los tricotecenos en los grupos A, B, C y D según sus estructuras químicas . . . . .	19
5. Estructura química de la zearalenona . . . . .	24
6. Niveles de DON detectados en 4 localidades del estado de Jalisco . . .	48
7. Niveles de DON detectados en las variedades de maíz UDG 600, 601 y 602 . . . . .	49
8. Niveles de fumonisinas detectados en maíz de 4 localidades del estado de Jalisco . . . . .	50
9. Niveles de fumonisinas detectados en las variedades UDG 600, 601 y 602 . . . . .	51
10. Niveles de concentración de Ocratoxinas detectados en 4 localidades del estado de Jalisco . . . . .	53
11. Niveles de Ocratoxinas detectados en las variedades de maíz UDG 600, 601 y 602 . . . . .	54
12. Niveles de Zearalenona detectados en 4 localidades del estado de Jalisco . . . . .	55
13. Niveles de concentración de zearalenona detectados en las variedades UDG 600, 601 y 602 . . . . .	56
14. Niveles de micotoxinas en las variedades de maíz UDG 600, 601 y 602 .	57
15. Niveles de micotoxinas en las 4 localidades estudiadas . . . . .	59
16. Temperaturas promedio registradas durante el ciclo primavera-verano 1997 . . . . .	61
17. Precipitación pluvial acumulada durante el ciclo primavera-verano 1997.	61

## RESUMEN

Las micotoxinas son metabolitos secundarios de hongos contaminantes de alimentos de gran impacto a la salud de humanos y animales. El objetivo del estudio fue analizar los niveles presentes de aflatoxina, deoxinivalenol (DON), fumonisinas, ocratoxinas y zearalenona en maíz de tres variedades cultivadas en cuatro localidades del estado de Jalisco durante el ciclo primavera verano de 1997. Bajo un diseño completamente al azar se recolectaron 108 mazorcas de las variedades UDG 600, 601 y 602 de las localidades Acatic, Ameca, Ixtlahuacán de los Membrillos y Villa Corona, Jalisco. La detección de micotoxinas se realizó mediante la técnica de cromatografía de inmunoafinidad (Vicam®); los resultados se contrastaron mediante ANOVA a un nivel de confianza de 95 y 99% y se aplicó la prueba de Tukey para comparación de medias. El análisis del maíz mostró contaminación en el 100% de las muestras para todas las micotoxinas excepto aflatoxinas, con niveles superiores a los tolerables en humanos y para algunas especies de animales. DON se presentó en niveles que fluctuaron entre 2.8 a 36 ppm, la mayor contaminación se encontró en Acatic, (11.22 ppm) diferente estadísticamente ( $p < 0.05$ ) a Villa Corona. Los niveles de fumonisinas se presentaron de 1.7 a 24 ppm, mostrando Villa Corona la mayor concentración de dichas micotoxinas (12.74 ppm), diferente significativamente ( $p < 0.05$ ) con Acatic e Ixtlahuacán de los Membrillos. La detección de ocratoxina reportó valores entre 1.1 y 50 ppb, correspondiendo a Ixtlahuacán de los Membrillos la mayor contaminación (29.42 ppb), diferente estadísticamente con Villa Corona. Zearalenona mostró niveles entre 0.04 y 0.870 ppm, sin presentar diferencia estadística entre localidades ( $p > 0.05$ ), efecto que se observó entre los promedios de las micotoxinas presentes en las 3 variedades de maíz. Las condiciones climáticas de temperatura y humedad relativa se presentaron en forma similar en las cuatro localidades estudiadas. Se concluye que durante el ciclo de cultivo estudiado las condiciones ambientales fueron propicias para desarrollo de hongos productores de deoxinivalenol (DON), fumonisinas, ocratoxinas y zearalenona, en niveles que pueden ser considerados de riesgo toxicológico a la salud de humanos y animales.

## I. INTRODUCCIÓN

Las micotoxinas son compuestos orgánicos producidos por hongos microscópicos, biológicamente activos, que pueden causar problemas de intoxicaciones agudas, subagudas y crónicas con efectos carcinogénicos, teratogénicos y mutagénicos, entre otros. Los metabolitos secundarios de origen fúngico poseen diversas estructuras químicas, además, son sintetizados por diferentes vías a partir de uno o más metabolitos provenientes del metabolismo primario. En la naturaleza hay una variación enorme en el metabolismo secundario; que puede ser intergenérica, intraespecífica y aún entre cepas de una misma especie (Campbell, 1984).

En las explotaciones pecuarias se encuentran por lo general una o más de ellas, lo cual potencializa el efecto tóxico en los animales, representando grandes pérdidas económicas al verse afectados en primer lugar los parámetros productivos e incrementarse la incidencia de enfermedades a causa del efecto inmunosupresivo de las micotoxinas (Boutrif y Canet, 1998).

La producción de micotoxinas no está restringida a un solo grupo de especies fúngicas, sino que los hongos productores pueden pertenecer a varias clases y ordenes dentro del reino. Así encontramos hongos toxicogénicos dentro de las clases *Oomycetes*, *Zygomycetes*, *Deuteromycetes*, *Ascomycetes* y *Basidiomycetes* (Smith y Moss, 1985; Alexopoulos y col., 1996). Sin embargo, las principales micotoxinas han sido reconocidas como productos metabólicos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. La mayoría de las especies productoras de micotoxinas son saprófitas;

unas pocas son patógenas facultativas de vegetales (Kale y Bennet, 1992.,Pitt, 2000).

### **I.1. Género *Aspergillus*:**

Las especies del género *Aspergillus* son saprofitas y pueden crecer sobre un amplio rango de sustratos naturales (maderas, textiles, cemento, medicamentos, granos de cereales y subproductos de oleaginosas) y condiciones climáticas. Ellas poseen gran versatilidad metabólica y habilidad para dispersar sus esporas en el ambiente. Si bien muchas especies son consideradas patógenas, alergénicas, toxicogénicas y descomponedoras; otras son utilizadas en la producción de alimentos fermentados. Las especies patógenas representan un riesgo real para la salud, dado que pueden producir numerosas enfermedades tales como: aspergilosis aviar y aborto micótico bovino. Las esporas pueden causar hipersensibilidad en personas sensibilizadas, con fibrosis y neumonitis. Algunas especies son productoras de micotoxinas y causantes de importantes micotoxicosis en humanos y animales, entre las que destacan las aflatoxinas (Pitt y Hocking, 1997).

#### **I. 1.1. Aflatoxinas**

Las aflatoxinas (AFs) son un grupo de toxinas estructuralmente relacionadas a otros metabolitos secundarios producidos por hongos. Estas toxinas fueron descubiertas en el año de 1960 después de una intoxicación aguda en Inglaterra, conocida como enfermedad x de los pavos. En esta micotoxicosis murieron miles de pavos y patos

pequeños después de consumir harina de cacahuete, proveniente de Brasil, contaminada con AFs (Blount, 1961). Un análisis químico realizado a la harina de maíz mostró la presencia de una serie de compuestos tóxicos que presentaban fluorescencia bajo la luz UV, estos compuestos fueron denominados aflatoxinas, ya que se atribuyó su síntesis a la especie contaminante *A. flavus*.

Se conocen cuatro AFs principales B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>. Las del grupo B son bifurano cumarinas unidas a un anillo de ciclopentatona y las del grupo G son bifuranos cumarinas unidas a un anillo lactona. Un doble enlace entre el C-8 y C-9 en forma de un vinil eter, se encuentran en el anillo furano terminal en la AFB<sub>1</sub> y AFG<sub>1</sub> pero no en la AFB<sub>2</sub> y AFG<sub>2</sub> (Figura 1). Esta pequeña diferencia estructural se asocia con grandes cambios en su actividad, dado que AFB<sub>1</sub> y AFG<sub>1</sub> son carcinogénicas y considerablemente más tóxicas que AFB<sub>2</sub> y AFG<sub>2</sub>. Las AFs del grupo B fluorescen cuando se exponen a la luz UV de color azul y las del grupo G de color verde. Los superíndices 1 y 2 designan el patrón de movilidad cromatográfica (valor R<sub>f</sub>) de estos compuestos en cromatografía de capa fina (TLC).

En varias especies animales que consumen alimentos contaminados con AFs, estas sufren una biotransformación en aflatoxina M<sub>1</sub> y M<sub>2</sub> (AFM<sub>1</sub> y AFM<sub>2</sub>) presentes en la leche (Galtier, 1998).

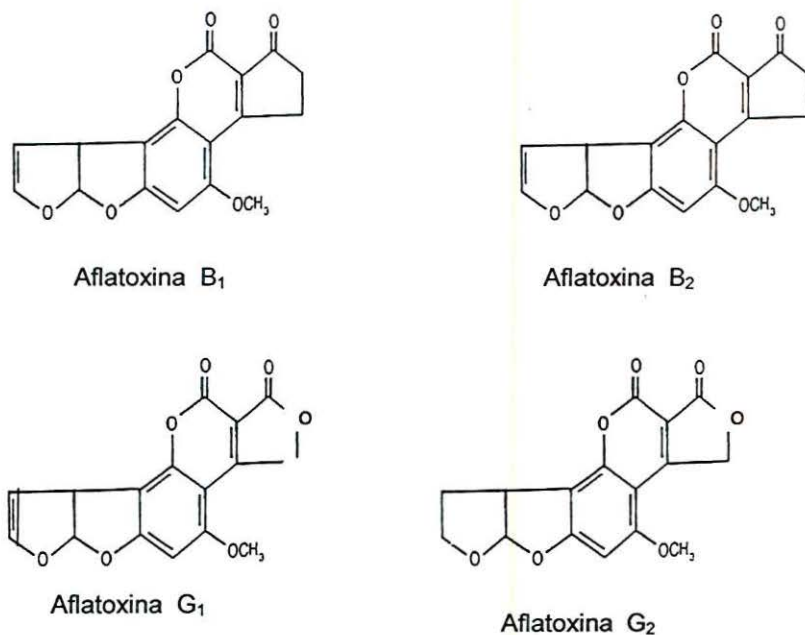


Figura 1. Estructuras químicas de las aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>.

#### Efectos biológicos y toxicidad de las aflatoxinas.

La susceptibilidad de los animales a las AFs varían de acuerdo a la especie, raza, edad y estado nutricional del animal considerado. Los más susceptibles son los pollos, patos, y cerdos mientras que, las cabras, ratas, ratones y vacunos son relativamente resistentes. La susceptibilidad a la aflatoxicosis aguda se determina a través de la DL<sub>50</sub> (mg/kg de peso corporal). Para una cierta cantidad de animales se ha determinado la DL<sub>50</sub>: patos y conejos 0.3 a 0.5; perros 1.0; cerdos 0.62; monos 2.2; pollos 6 a 16; ratas 7; ratones 9. En estudios realizados con animales la AFB<sub>1</sub> es la más tóxica, seguida por AFM<sub>1</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub> y AFG<sub>2</sub>.

Numerosas investigaciones sugieren que los metabolitos de AFs no son los responsables directos de los efectos tóxicos. Durante su transformación metabólica la AFB<sub>1</sub> se puede conjugar con aminoácidos ácido glucurónico y sales biliares, en su proceso de eliminación. Durante la detoxificación hepática, ésta toxina es activada irreversiblemente vía el citocromo P<sub>450</sub>, que media la oxidación a un exo-8,9-epóxido de AFB<sub>1</sub> (Neal, 1998).

La sensibilidad de una especie animal a los efectos tóxicos de esta micotoxina podría estar determinada por la capacidad de formación de este metabolito y/o por la velocidad de detoxificación del epóxido de AFB<sub>1</sub> formado. La respuesta biológica a AFB<sub>1</sub> en términos de genotoxicidad y citotoxicidad parecen dependientes de la formación metabólica del compuesto exo-8,9-epóxido de AFB<sub>1</sub>, que le permite a la toxina unirse covalentemente al DNA, RNA, proteínas y otras moléculas. La unión de DNA produce la sobreexpresión de cierto grupo de oncogenes, proceso presumiblemente involucrado en la inducción de tumores malignos en los tejidos blancos. Además, las AFs principalmente conocidas como hepatotóxicas y hepatocarcinógenas, poseen numerosos efectos inmunosupresivos observados en las intoxicaciones crónicas y derivados de su capacidad de acción sobre el DNA y la síntesis de proteínas. Estas toxinas inhiben la respuesta inmune mediada por células, lo cual se manifiesta en la reducción del peso del timo, de la bolsa de Fabricio y del número de linfocitos T periféricos, con inhibición de la proliferación y diferenciación de células del sistema linfoide. (Oswald y Coméra, 1998; Bondy y Pestka, 2000).

Existen suficientes evidencias para involucrar a las AFs en la producción de cáncer hepático en el mundo (Linsell y Peers, 1977; Peers y col. 1976). En 1987, la Agencia Internacional para la Investigación sobre Cáncer (IARC) (IARC, 1986), declaró a la AFB<sub>1</sub> como un carcinógeno de clase 1 sobre la base de ensayos en los animales. Los estudios sobre los posibles casos de aflatoxicosis en humanos han sido informados en muchos países en el sudeste de Asia y África (Linsell y Peers, 1977; Peers y col., 1976; Van Rensburg y col., 1985).

Los primeros signos clínicos de intoxicación crónica en aves y mamíferos son malestar general acompañado de pérdida del apetito y del peso corporal; aunque estos signos clínicos no conducen a un diagnóstico específico. En observaciones patológicas de bajos niveles de intoxicación, revelan ictericia generalizada y cirrosis hepática con proliferación celular de los conductos biliares y fibrosis periportal. En los casos de intoxicación aguda, se manifiesta ictericia de las membranas mucosas, hemorragias diseminadas, acumulación de ácidos grasos en hígado. La patología hepática es la principal característica en la mayoría de las especies ensayadas, asociado con un aumento en los niveles de fosfatasa alcalina sérica, lo cual constituye un buen indicador del mal funcionamiento hepático asociado con aflatoxicosis (Ramos y Hernández, 1997).

## **I.2. Género *Penicillium*:**

Este género es el más diverso en términos de número de especies y rango de hábitat. De las especies documentadas solo 70 son de gran interés y significancia, y de ellas 30 son de amplia incidencia. La mayoría de las especies son ubicuas y



saprófitas crecen en una amplia variedad de ambientes con diversas fuentes de carbono y condiciones fisicoquímicas. Si bien son hongos típicos de suelo, también contaminan la vegetación en descomposición y crecen en hábitat seco, tales como semillas, madera, cuero, textiles, etc. Además están asociados con alimento de consumo humano, quesos, embutidos y fermentados, ciertas especies de *Penicillium* le dan al producto el aroma, el sabor y la apariencia.

Numerosos metabolitos tóxicos son producidos por este género y solo algunos están asociados a los alimentos; los que poseen mayores efectos en la salud de humanos y animales son: ocratoxina A (OA), ácido ciclopiazónico (CPA), citreoviridina citrinina (C), patulina (P) y ácido penicílico (AP), entre otros, toxina PR, penitren A y rubratoxinas. De todas estas toxinas, solo OA posee controles regulatorios, mientras que para patulina existen niveles recomendados para jugos de manzana en el Reino Unido (Boutrif y Canet, 1998; Beretta y col., 2000).

### **I. 2.1. Ocratoxina**

La segunda micotoxina en importancia después de las aflatoxinas son las ocratoxinas. Si bien se han aislado un amplio rango de metabolitos derivados de ocratoxina como OB, solo la OA ha sido detectadas en productos agrícolas. Esta toxina es producida principalmente por *P. verrucosum* en regiones de clima cálido y templado; y por algunas especies de *Aspergillus* (*A. ochraceus*, *A. sulphureus*, *A. sclerotium*, *A. mellus*) en regiones de clima tropicales (Frisvad y Samson, 1991; Varga y col., 1996).

Las ocratoxinas son una familia de 7 sustancias afines formadas por una molécula de fenilalanina unida por un enlace amídico a una 3,4 dihidroisocumarina, entre las cuales la ocratoxina A es la más común por su significancia toxicológica (Figura 2).

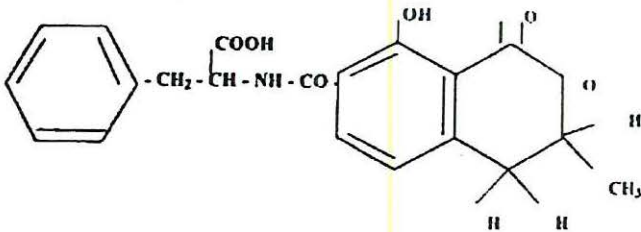


Figura 2. Estructura química de la ocratoxina A.

En muchos casos se ha detectado a OA en co-ocurrencia con citrinina, donde esta ocurre en niveles superiores. Las especies productoras de esta toxina son *P. citrinum*, *P. verrucosum* y *P. viridicatum*.

Efectos biológicos y toxicidad de las ocratoxinas.

Los órganos principalmente afectados durante la ocratoxicosis son hígado y riñón. En el hígado, ataca al retículo endoplásmico de los hepatocitos produciendo degeneración hialina y necrosis focal junto a una infiltración grasa. En riñón se produce necrosis epitelial en los túbulos proximales, acompañada por cambios degenerativos del núcleo y engrosamiento de la membrana basal. Los riñones aumentan de tamaño, el color es pálido, aparecen quistes y focos fibrosos. Este síndrome se presenta en cerdos, gallinas ponedoras y pollos de engorda y su presentación puede

ser por intoxicación aguda, los animales aparecen deprimidos, con anorexia, paresia, edema perineal en verracos, ascitis, hidrotórax, edemas subcutáneos y mesentéricos.

En la intoxicación crónica por OA se disminuye el apetito y el crecimiento de los animales, aumenta el consumo de agua y aparece poliuria. Se encuentran residuos de ocratoxina A (OA) en hígado, riñón, grasa y carne. (Pont y col., 1989) En pollos los síntomas varían dependiendo de la dosis, con diarreas, disminución del peso y de la velocidad de crecimiento y rechazo del alimento. En las aves ponedoras, la ocratoxicosis retrasa la madurez sexual, disminuye la producción de huevos estos son pequeños y de cascarón delgado, con aspecto de caucho y frágiles, rompiéndose con frecuencia (Jaramillo, 1999).

La OA tiene efecto sinérgico con la actividad inmunosupresora de las aflatoxinas. Ambas micotoxinas combinadas pueden producir anemia, hipoproteinemia, linfocitopenia, heterofilia, disminución del peso de la bolsa de fabricio y disminución de la actividad del complemento. Disminuye el número de células productoras de inmunoglobulinas en los órganos linfoides y de los niveles circulantes (Leeson y col. 2000).

En la alimentación de reproductoras y pollos de engorda es de considerable importancia la prevención del crecimiento de hongos y sus micotoxinas. Los efectos clínicos de las micotoxicosis reducen seriamente el rendimiento de las aves. La ocratoxina y las aflatoxinas pueden reducir la resistencia a fracturas de hueso y

provoca hemorragias en músculos lo que ocasiona canales de menor calidad. La ocratoxina puede reducir la resistencia o elasticidad del intestino grueso, ocasionando contaminación fecal de la canal del pollo de engorda durante su procesamiento. Otros efectos de la ocratoxicosis son: alteración de los procesos de coagulación sanguínea con aparición de coagulopatías sin anemia aplásica. Disminución de los carotenoides séricos con lo que el potencial de pigmentación del pienso no se expresa totalmente y disminución de la fuerza tensil del intestino grueso. La causa radica en una reducción del contenido de colágeno de la pared intestinal. Al manipular la canal en el matadero, el intestino se rompe, contaminando la cavidad abdominal con el contenido fecal, lo que es causa de decomiso (Trevor y col., 1995).

La OA produce efectos nefrotóxicos en todas las especies monogástricas, incluso a dosis de 200 ppb en alimentos. Se observaron efectos teratogénicos en ratones expuestos a dosis de 3 mg/kg de peso corporal administrados vía oral, estos se acentuaron con una ración baja en proteínas, en ratas que recibieron por vía oral dosis de 0.75 mg/kg de peso corporal se observó resorción fetal. La OA es inhibidora de la síntesis de proteínas y de la sintetasa del ARNt en microorganismos. También puede inhibir la migración de los macrófagos. En ratones a dosis de 0.005 µg/kg de peso corporal suprimió la respuesta inmunitaria a eritrocitos de ovejas. La OA es cancerígena para el epitelio de los túbulos renales en ratones machos y en ratas de ambos sexos. (Council for Agricultural Science and Tecnology, 1989).

El consumo de alimentos contaminados con OA ha sido asociado con la nefropatía endémica de los Balcanes, estudios más recientes proveen evidencias de que esta toxina puede estar involucrada en patologías renales en humanos en muchos países (Krogh,1992; Gremmels y col., 1995). La Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC,1993 a), clasificó a esta toxina como un posible carcinógeno humano (grupo 2B) solo en base a suficientes evidencias en la producción de carcinogenicidad en animales de laboratorio.

### **I. 3. Género *Fusarium***

*Fusarium* es un género de Hyphomycetes, ahora considerado un género anamorfo afiliado con el orden Hypocreales (Ascomycetes). Los miembros de este género se caracterizan por formar sus esporas a partir de fragmentos de micelio conocidos como fialides. Producen típicamente dos tipos de conidios, que reciben el nombre de macroconidios y microconidios.

Este género incluye especies que son frecuentemente fitopatógenas, causando podredumbre en raíz y frutos, muerte en brotes y tejidos de plantas nativas y de cultivos, esto conduce a severas pérdidas en la cantidad y calidad de los granos, además de la producción de una amplia variedad de metabolitos secundarios (Langseth y col. 1993) que se acumulan en la planta y en los granos en el estadio a campo. Estas especies son muy ubicuas, son comunes en regiones de climas tropical y templado, aunque también es posible aislarlo en zonas áridas, alpinas y áreas árticas donde prevalecen condiciones climáticas inhóspitas.

La amplia distribución del género *Fusarium* puede atribuirse a dos factores: su capacidad para colonizar un rango muy amplio de sustratos y un eficiente mecanismo para dispersarse en el tiempo y/o espacio. Estos dos factores le permiten adaptarse rápidamente a nuevos nichos ecológicos, así se encuentran como saprófitos en el suelo y sobre restos vegetales en descomposición. Algunas de las especies son conocidas por ocasionar enfermedades en diversos cultivos con gran interés económico como el maíz, sorgo, trigo, espárragos, entre otros (Jardine y Leslie, 1992; Sun y Snider, 1981; Elmer y Fernandino, 1992; Leslie y col, 1990). El maíz, entre otros cereales, sufre invasión de especies del género *Fusarium* provocando en ellas reducción severa en la producción de granos (Wakulinski y col., 1991).

Dentro del género *Fusarium* las especies pertenecientes a la sección *Liseola* se aíslan a partir de maíz y productos derivados de consumo humano y animal en todo el mundo. Estas especies son de relevancia por ser potenciales productoras de micotoxinas tales como: moniliformina, fusaproliferina y fumonisinas (Scudamore y col. 1998).

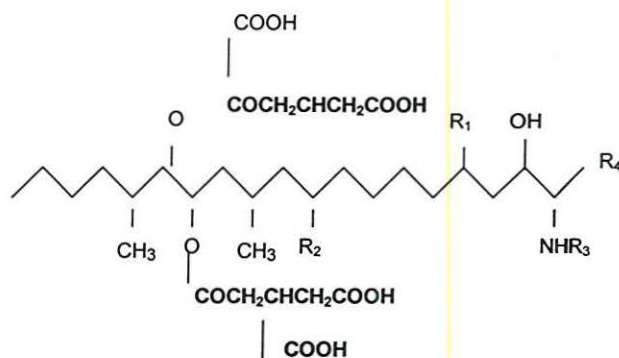
### **I.3.1. Fumonisin**

Las fumonisinas (FBs) constituyen una familia de micotoxinas producidas principalmente por dos especies de la sección *Liseola*, *F. verticillioides* y *F. proliferatum*. Estas especies son las de mayor importancia e infectan con gran frecuencia los cultivos de maíz en todo el mundo (Ross y col., 1990; Nelson, y col.,

1992). Otras especies relacionadas: *F. nygamai*, *F. napiforme*, *F. anthophilum* y *F. diamini* son consideradas productoras de estas toxinas (Nelson y col., 1992). Las FBs se aislaron por primera vez a partir de cultivos de la cepa *F. moniliforme* (*F. verticillioides*) MRC 826 en el South África Medical Research Council por Gelderblom y col. (1988). Su aislamiento se realizó a raíz de la muerte de caballos principalmente en Nueva Caledonia, que padecían leucoencefalomalacia y un elevado índice de cáncer esofágico en el sur de África. Estos dos grupos de trabajo en Sudáfrica y en Nueva Caledonia en forma independiente aislaron la fumonisina más abundante fumonisina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) a partir de este alimento.

Hasta el momento se han aislado y purificado diez tipos de fumonisinas, denominadas fumonisinas A<sub>1</sub> (FA<sub>1</sub>), A<sub>2</sub> (FA<sub>2</sub>), B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>), B<sub>2</sub> (FB<sub>2</sub>), B<sub>3</sub> (FB<sub>3</sub>), B<sub>4</sub> (FB<sub>4</sub>), C<sub>1</sub> (FC<sub>1</sub>), C<sub>2</sub> (FC<sub>2</sub>), C<sub>3</sub> (FC<sub>3</sub>), C<sub>4</sub> (FC<sub>4</sub>). Las FBs correspondientes a la serie B y C son contaminantes naturales en alimentos a base de maíz para consumo humano y animal (Pittet, 1998). Mientras que las de la serie A, son formadas únicamente durante el proceso de purificación (Plattner y col., 1992; Seo y Lee, 1999).

Estructuralmente las FBs están formadas por una cadena lineal hidrocarbonada de 20 átomos de carbono sustituidos en el C-2 por una amina, los C-3 y C-5 por hidroxilos, C-12 y C-16 por grupos metilo, C-14 y C-15 por radicales hidroxilos y en el C-10 el radical que sustituye varía según el tipo de fumonisina (Figura 3).



Fumonisin	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
FA <sub>1</sub>	OH	OH	Oac	CH <sub>3</sub>
FA <sub>2</sub>	OH	H	Oac	CH <sub>3</sub>
FB <sub>1</sub>	OH	OH	H	CH <sub>3</sub>
FB <sub>2</sub>	OH	H	H	CH <sub>3</sub>
FB <sub>3</sub>	H	OH	H	CH <sub>3</sub>
FB <sub>4</sub>	H	H	H	CH <sub>3</sub>
FC <sub>1</sub>	OH	OH	H	H <sub>2</sub>
FC <sub>4</sub>	H	H	H	H <sub>2</sub>

Figura. 3. Estructura química de las fumonisinas de la serie A, B y C purificadas de maíz contaminado con *F. verticillioides*.

La FB<sub>1</sub> presenta grupos hidroxilos libres o esterificados en los átomos de carbono C-3, C-5, C-10, C-14, C-15. Esta es la fumonisina más importante y la encontrada en mayor concentración en productos contaminados. La FB<sub>2</sub>, homóloga carece del grupo hidroxilo en el C-10, es producida en menor concentración que la FB<sub>1</sub> y constituye el 20-30% de la cantidad total de FBs detectadas, la FB<sub>3</sub>, isómero estructural de FB<sub>2</sub>, carece del grupo hidroxilo en el C-5 (Seo y Lee, 1999).



Efectos biológicos y toxicidad de las fumonisinas.

Las FBs son claramente la causa de varias enfermedades en animales, tanto naturales como inducidas experimentalmente (Ross y col., 1990). Estas toxinas están asociadas con la leucoencefalomalacia equina (ELEM) y el síndrome de edema pulmonar porcino (PPE) (Colvin y Harrison, 1992), actividad inmunosupresora en aves de corral (Oswald y Comera, 1998), cáncer de hígado en ratas (Gerderblom y col, 1991) y recientemente se la relacionó con un aumento en el riesgo de cáncer de esófago en humanos (EC), que consumen maíz contaminado (Rheeder y col., 1992; Sydenham y col., 1990). También FB<sub>2</sub> y FB<sub>3</sub> son promotoras de cáncer con una actividad similar en hígado de ratas (Gelderblom y col., 1992). La Agencia Internacional de Investigación de Cáncer (IARC); recientemente evaluó a las toxinas derivadas de *F. verticillioides* como grupo 2B o posibles carcinógenos en seres humanos (IARC, 1993 b).

La Leucoencefalomalacia equina (ELEM), es una enfermedad neurotóxica equina, caracterizada por una necrosis multifocal de la materia blanca de uno de los hemisferios bajos del cerebro. Es una de las micotoxicosis más comunes relacionadas a las FBs. El síndrome se asocia al consumo de alimentos contaminados con FB<sub>1</sub> y FB<sub>2</sub>, producidas especialmente por *F. verticillioides*. Este hongo se aísla predominantemente de alimentos enmohecidos como causa de brotes de ELEM en Estados Unidos, Sudáfrica, Egipto, Argentina, China, Brasil, y también se notificó en Grecia y Alemania. El examen histopatológico de los animales intoxicados revela frecuentemente la presencia de lesiones hepáticas y renales como

así también focos hemorrágicos en los hemisferios cerebrales y en otras partes del sistema nervioso central como bulbo raquídeo, cerebelo y médula espinal (Marasas y col, 1988). Ante la falta de recomendaciones, miembros del Comité de Micotoxinas de la Asociación Americana, a través del Laboratorio de Diagnóstico recomiendan no destinar a equinos, alimentos con un contenido de FB<sub>1</sub> superior a 5 ppm (Riley y col., 1993; Norred y Voss, 1994).

El síndrome de edema pulmonar porcino (PPE), es una enfermedad inusual en esta especie animal, se caracteriza por dificultad respiratoria, postración y eventual muerte del animal. Las necropsias de los animales afectados se caracterizan por presentar un severo edema de pulmón e hidrotórax (Harrison y col., 1990; Norred y Voss, 1994). El PPE está asociado al consumo de maíz y especialmente a los desperdicios de maíz constituidos por granos rotos, restos de tallos, paja y otros residuos, contaminados con *F. verticillioides* y FBs. Según Ross (1994), la morbilidad de la enfermedad varía entre 5 y 50% con una mortalidad mayor al 50%, y el curso clínico agudo varía entre 1 y 2 días (Osweiler y col., 1992; Ross, 1994). Otros órganos susceptibles a la acción de las FBs en cerdos son hígado y páncreas (Osweiler y col., 1992). Si bien todavía no hay una regulación oficial para FBs, el Comité de Micotoxinas de la Asociación Americana, a través del Laboratorio de Diagnóstico recomienda no destinar a cerdos alimentos con un contenido de FB<sub>1</sub> superior a 10 ppm (Riley y col., 1993; Miller y col., 1996).

El consumo de dietas contaminadas con *F. verticillioides* en pollos de engorda, se asocia a la producción de cambios funcionales en las aves como: necrosis hepática

multifocal, hiperplasia biliar, reducción en el peso corporal, de hígado y bazo, anomalías esqueléticas (arqueamiento de patas), alteración en los parámetros bioquímicos y elevada mortalidad (Espada y col., 1994). En pavos se han observado alteraciones en el miocardio. El Comité de Micotoxinas de la Asociación Americana, recomienda no destinar para el consumo de aves de corral alimentos con un contenido de FB<sub>1</sub> superior a 50 ppm (Riley y col., 1993).

Debido al elevado índice de cáncer de esófago en la población de Transkei, Sudáfrica, se estudió la relación entre consumo de maíz y la presencia de *F. verticillioides*. Además este cereal constituye el alimento básico (90%) de la población de esa zona. Varios estudios mostraron que FB<sub>1</sub> podría ser responsable del cáncer esofágico, junto a otros factores predisponentes como el hábito de fumar, el consumo de alcohol, la dieta rica en maíz y las deficiencias nutricionales (Franceschi y col., 1990).

El rango de concentración reportado por presentación natural en maíz asociado con cáncer esofágico es de 0.0 a 10500 ng/g (ppb) en maíz considerado como "sano" y entre 600 y 63200 ng/g en maíz obviamente "mohoso" (Hopmans y Murphy, 1993; Sydenham y col., 1991). Los niveles de fumonisinas en alimentos de animales asociados con brotes de leucoencefalomalacia equina se encuentran entre 1300 y 150000 ng/g de FB<sub>1</sub>, 100 y 23 000 ng/g de FB<sub>2</sub>, mientras que los niveles asociados con el edema pulmonar porcino son 105000 a 155000 ng/g de FB<sub>1</sub> (Colvin y col., 1993; Haschek y col., 1992).

### I. 3.2. Tricotecenos

Los tricotecenos son una familia de epoxisesquiterpenos, producidos por numerosas especies del género *Fusarium* y otros géneros fúngicos relacionados (*Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichothecium* y *Verrucaria*), estos se pueden encontrar como contaminantes naturales en distintos productos de origen agrícola, fundamentalmente trigo y maíz. Su nombre deriva de *Trichothecium roseum*, a partir del cual se aisló en el año de 1984, el primer miembro del grupo, el tricotecin. Estas toxinas son potentes inhibidores de la síntesis proteica en organismos eucariotas incluyendo animales, hongos y plantas. El interés reside en su toxicidad y en el hecho de que la contaminación de las cosechas, alimentos e insumos para animales es un problema permanente y de alcance mundial (Desjardins y col., 1993).

El género fúngico más importante, por su patogenicidad en una amplia variedad de huéspedes y por la producción de tricotecenos en cereales, es sin duda *Fusarium*. Según el sistema taxonómico de Nelson y col. (1983), seis especies de este género han sido documentadas como productoras de tricotecenos en todo el mundo: *F. crookwellense*, *F. culmorum*, *F. graminearum* y *F. sambucinum* (sección *Discolor*), *F. sporotrichioides*, *F. poae* (sección *Sporotrichiella*). El perfil de producción de tricotecenos de las especies de *Fusarium* difiere marcadamente respecto del tipo como de la cantidad producida y una amplia variedad de otros tricotecenos pueden ser producidos por cepas individuales bajo determinadas condiciones de crecimiento (Desjardins y col., 1993; Nelson y col., 1993).

Los tricotecenos de *Fusarium* son alcoholes relativamente simples y ésteres de cadena corta; y se ha propuesto una clasificación en cuatro grupos: A, B, C y D (Figura 4). Por su incidencia natural y asociación con micotoxicosis en seres humanos y animales, los grupos A y B son los de mayor significancia. Pertenece al grupo A: toxina T-2 (T-2), toxina HT-2 (HT-2), diacetoxiscirpenol (DAS) y neosolanol (NEO). Pertenecen al grupo B: deoxivalenol (DON, vomitoxina), 3-acetildeoxinivalenol (3-AcDON), 15-acetildeoxinivalenol (15-AcDON), nivalenol (NIV) y furasenona X (FX).

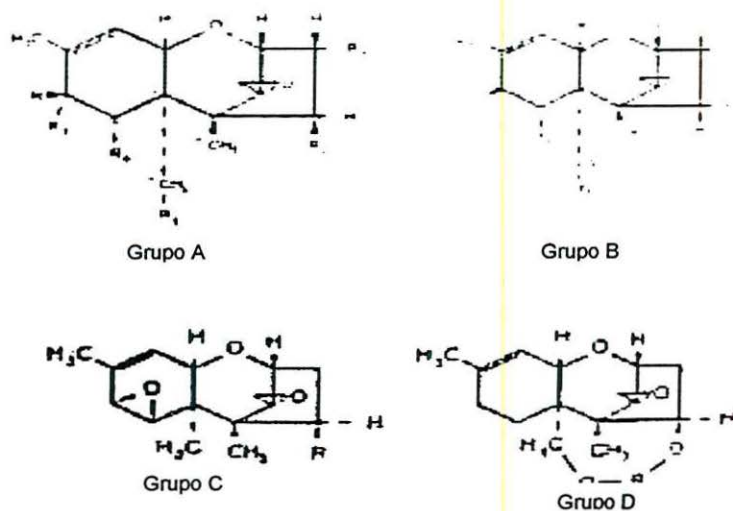


Figura 4. Clasificación de los tricotecenos en los grupos A, B, C y D según sus estructuras químicas. (ApSimon, 1994)

### Efectos biológicos y toxicidad de los tricotecenos:

Todas las especies animales que han sido expuestas parecen ser susceptibles a los tricotecenos, micotoxinas capaces de producir una amplia variedad de efectos tóxicos (Rotter y col., 1996). Los síntomas de enfermedad varían ampliamente según la especie animal y el tricoteceno particular de que se trate, los niveles y las vías de exposición. Experimentos llevados a cabo con tricotecenos químicamente puros a bajas dosis, han reproducido varios de los aspectos observados en las toxicosis asociadas con la ingesta de granos enmohecidos incluyendo: anemia e inmunosupresión, hemorragias, emesis y rechazo de alimento en ganado porcino, vacuno y aves de corral. Los cerdos y otros animales monogástricos (incluyendo los humanos) son los más sensibles a estas toxinas, los pollos y los patos, son los más tolerantes, seguidos por los rumiantes (Scott, 1994).

La experimentación con animales ha demostrado que estas toxinas son teratogénicas, inhibidoras de la síntesis proteica y potentes inmunosupresores, predisponiendo a los animales a otras enfermedades (Overnes y col., 1997). En general, en todas las especies que sufren síntomas de intoxicación por tricotecenos, se produce una excelente recuperación cuando el alimento contaminado es retirado de la ración.

En pollos y pavos se necesitan altos niveles de tricotecenos para lograr una respuesta tóxica. El consumo de T-2 y DAS en forma crónica, inducen reducción en el consumo de alimento y en la ganancia de peso, lesiones orales, necrosis de

ciertos tejidos (linfoide, hematopoyético, mucosa gástrica), posibles desordenes neurológicos y plumaje anormal (Ademoyero y Hamilton, 1989).

Datos históricos y epidemiológicos en seres humanos indican una asociación entre ciertas epidemias y en el consumo de granos infectados con especies de *Fusarium* productoras de tricotecenos. Brotes de leucopenia tóxica alimentaria (ATA) que ocurrieron en la Unión Soviética en los años cuarenta, han sido asociados con el consumo de granos infectados con *F. sporotrichinoides* (especie productora de T-2). En Japón, brotes de una enfermedad similar (akakaby-byo) fueron asociados con el consumo de granos infectados con *F. graminearum* (especie productora de DON). Sin embargo, no existen evidencias directas de que T-2 o DON hayan sido los metabolitos responsables de esas epidemias en seres humanos.

En 1993, la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) en función de la limitada información disponible en seres humanos y animales, determinó que los tricotecenos DON, NIV, FX y T-2 no pueden ser clasificados como carcinógenos para seres humanos, por lo tanto fueron asignados dentro del grupo 3 para la IARC (Castegnaro y McGregor, 1998).

#### **I.3.2.1. Deoxinivalenol (DON).**

Los efectos tóxicos ocasionados en animales por DON son reducción de la ganancia de peso, rechazo del alimento, anemia e inmunosupresión. Los cerdos son extremadamente sensibles a esta micotoxina. En pollos se ha observado irritación

del tracto gastrointestinal superior, hemorragias, desordenes nerviosos, disfunción renal y respuesta inflamatoria indefinida. Si bien los niveles de contaminación natural con DON en los alimentos avícolas son bajos para producir micotoxicosis, se debe considerar la incidencia de más de una toxina que pueden interactuar potenciando el efecto (Kubena y col., 1997).

En general, bajo condiciones *in vivo* con varios animales domésticos el DON suprime la respuesta inmune normal e induce efectos autoinmunes, con superproducción de citocinas, activación de macrófagos y células T (Rotter y col., 1996).

La cocción y otros procesos no eliminan los niveles de DON en los productos alimenticios ya que esta micotoxina permanece después de procesos como la fermentación, encontrándose niveles preocupantes en la cerveza . Niveles de DON de 0.5 ppm pueden causar problemas de palatabilidad resultando en pérdidas económicas por el bajo consumo de alimento. Los niveles de riesgo varían según la especie animal y es influenciado por la edad y el estado general de salud. Una vez que el alimento contaminado es retirado, el animal retorna a los niveles normales de consumo. Los niveles preventivos para DON recomendados por la FDA son de 1 ppm en los productos de trigo para consumo humano; 10 ppm para cereales y subproductos destinados para la alimentación del ganado vacuno y aves de corral, que no exceda del 50% del total de la composición del mismo; 5 ppm para cerdos y otras especies como perros y gatos, que no exceda del 20% de la dieta (Scott, 1994).



### I. 3.3. Zearalenona

Las micotoxinas estrogénicas constituyen una clase importante de estrógenos ambientales. El nombre zearalenona (ZEA) deriva de *Gibberella zeae*, que fue el primer organismo descubierto como productor. Esta toxina es producida principalmente por la especie *F. graminearum*, contaminante común de los cereales e insumos animales: seguida por *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. semitectum*, *F. gibbosum*, *F. tricinctum*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichioides* y *F. lateridium*.

La ZEA causa significantes problemas en las explotaciones pecuarias, particularmente en la producción porcina debido a su contribución a la contaminación ambiental con estrógenos (Shier, 1998).

La estructura química de la ZEA corresponde a una lactona del ácido resorcílico, el cual es un anillo lactona macrocíclico unido a un resorcinol (Figura 5). Hasta el momento, se han aislado al menos siete compuestos del tipo de la ZEA en la naturaleza. Estos metabolitos difieren de la estructura principal en el grado de oxidación e hidroxilación entre el C-3 y C-8 en el anillo lactona, con excepción de los compuestos 5-formilzearalenona y los derivados 4-metileter.

En cuanto a su mecanismo de acción ZEA actúa como un estrógeno, adoptando una conformación muy similar al 17-  $\beta$ -estradiol y otros estrógenos naturales que le permite unirse a receptores estrogénicos de los tejidos (Shier, 1998).

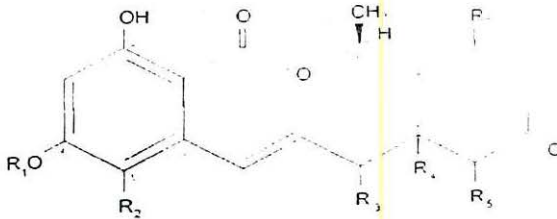


Figura 5. Estructura química de la zearalenona

#### Efectos biológicos y toxicidad de la Zearalenona:

Los cerdos son los animales más sensibles a los efectos tóxicos de la ZEA, aunque también se han observado síntomas en vacas lecheras, pavos y patos. El hiperestrogenismo es la enfermedad causada principalmente por esta toxina. Los síntomas observados en cerdas son vulvovaginitis, pudiendo progresar a un prolapso vaginal en los casos más severos. También se ha observado atrofia de los ovarios, con aumento de tamaño y edema en útero y glándulas mamarias. En machos jóvenes, esta toxina produce síntomas de feminización: engrosamiento de prepucio, atrofia testicular y desarrollo de las glándulas mamarias.

En machos maduros no se ve afectado el potencial reproductivo. Estos efectos adversos han sido observados con concentraciones de ZEA de 10 a 20 ppm: niveles más elevados (25 a 100 ppm) producen estros continuos, estados de pseudopreñez e infertilidad. Debido a la alta sensibilidad de estos animales a la ZEA aun a niveles

tan bajos como 1 ppm se comienzan a observar efectos adversos (Prelusky y col., 1994).

Pocas alteraciones en los parámetros bioquímicos se han observado con la ingestión crónica de ZEA, estos incluyen: aumento en los niveles de la progesterona sérica y disminución de las hormonas luteinizante y prolactina. Signos de teratogenicidad han sido demostrados en cerdas y en ratas hembras alimentadas con insumos conteniendo altas concentraciones de ZEA (Scott, 1994). Los casos a campo de problemas inducidos por la ingestión de ZEA en vacunos han sido bien documentados, consumiendo alimentos o raciones contaminadas con niveles de 10 a 15 ppm. Las manifestaciones clínicas se asocian típicamente con el síndrome hiperestrogénico, diarrea, estados de estro continuo, infertilidad, vaginitis, disminución en la producción de leche y abortos. En vacunos, no se observaron cambios en los parámetros bioquímicos aun con niveles elevados de ZEA (Coppock y col., 1990; Weaver y col., 1989).

A elevadas concentraciones de ZEA en el alimento, los pavos pequeños son más sensibles que las ponedoras y los pollos en la misma edad. Estos últimos, son las aves de corral más resistentes a los efectos tóxicos de esta toxina. Con los niveles comúnmente informados en los insumos, no se observan cambios en el consumo de alimento, ganancia de peso, producción de huevos, en los parámetros bioquímicos y hematológicos, en la apariencia histológica de los tejidos. En pollos alimentados con dosis de 800 ppm de ZEA durante 7 días se observaron síntomas leves, disminución en la ganancia de peso y algunos cambios en los pesos relativos de los órganos

(Allen y col., 1981). Existen limitadas evidencias para considerar a la ZEA como posible agente carcinógeno en seres humanos (Castegnaro y McGregor, 1998).

#### **I.4. Impacto económico social de las micotoxinas**

El impacto de las micotoxinas en la salud humana y animal es actualmente reconocido y se estima que las mismas causan graves pérdidas económicas estimadas en millones de dólares en todo el mundo (Peraica y col.), 1999). La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación estima que, cada año, el 25% de la producción agrícola destinada a alimentos es afectada por las micotoxinas. Ello se traduce en aumento de los costos para los productores de granos: en menor rendimiento, valor nutritivo e incremento en los costos de transporte; para los ganaderos: menor rendimiento de los animales, problemas en la reproducción, aumento en la incidencia de enfermedades, gasto en personal veterinario, aumento en los costos de descontaminación y pérdida en los mercados; para los distribuidores: incremento en los costos de procesos tales como secado, destoxificación y capacidad de almacenamiento; y para los industriales: pérdida de producto, costos de supervisión y análisis de micotoxinas en los productos (Osweiler, 2000; Hussein y Brasel, 2001).

Sólo en algunos casos particulares, es posible realizar un análisis directo de las pérdidas económicas producidas por la presencia de las micotoxinas en los productos agropecuarios. Un ejemplo de esto fue la contaminación de maíz con aflatoxinas en Estados Unidos en el año 1977, la cual representó una pérdida de

alrededor de 111 millones de dólares. Pero los costos son imposibles de estimar cuando las micotoxicosis implican muertes humanas (Smith y Moss, 1985).

## **I. 5. Prevención y control de micotoxinas**

La estrategia más efectiva de controlar la contaminación con micotoxinas es la prevención tanto de la infección fúngica como en la producción de sus toxinas, a campo y durante el almacenamiento. Cuando la contaminación ha tenido lugar, existe la posibilidad de reducir los niveles de toxinas iniciales por debajo de los valores de tolerancia recomendados a través de la dilución de los granos contaminados o la implementación de estrategias de descontaminación (Charmley y col., 1995; Galvano y col., 2001).

Desde hace varios años, se han establecido límites regulatorios para las toxinas más peligrosas, AFs en cereales, oleaginosas y productos derivados destinados principalmente al consumo humano. En la actualidad se cuenta con numerosos datos que informan la co-ocurrencia de varias micotoxinas en los alimentos: AFB<sub>1</sub> y FB<sub>1</sub>; OA y AFB<sub>1</sub>; citrinina, DON, ácido penicílico y toxina T-2; Afs y ácido ciclopiazónico; AFB<sub>1</sub> y DON; AFB<sub>1</sub> y toxina T-2.

Actualmente, 90 países poseen regulación o propuestas sobre límites de micotoxinas en sus alimentos, 77 países tienen algunas regulaciones, mientras 13 no poseen ninguna reglamentación vigente (FAO, 1997). La mayoría de las normas vigentes

están referidas a las aflatoxinas en diversos alimentos, principalmente aquellos destinados al consumo humano (Boutrif y Canet, 1998).

Son pocos los países donde se establecen límites de micotoxinas en maíz y alimentos a base de maíz destinados al consumo animal (Tabla 1). Menos frecuentes son las regulaciones para: patulina, ocratoxina A (OA), fumonisina B<sub>1</sub>(FB1), deoxinivalenol (DON), zearalenona (ZEA) y toxina T-2. Obviamente, la necesidad de una legislación que imponga límites para las toxinas fúngicas en alimentos es ampliamente reconocida por los países industrializados en el mundo.

La presencia de múltiples toxinas en los alimentos debe ser considerada cuando se aplican estrategias de descontaminación y/o detoxificación. Un proceso se considera efectivo cuando cumple los siguientes requisitos: ser aceptado por las agencias regulatorias, ser económico, aplicable a gran escala y capaz de reducir el riesgo de exposición a un alimento contaminado con más de una toxina fúngica.

Debido a que los conocimientos sobre la importancia sanitaria y económica de la contaminación de micotoxinas en los alimentos, son relativamente recientes y que los estudios de toxicología crónica son muy prolongados, no existen métodos industriales de gran difusión tendientes a prevenir las micotoxicosis

Tabla 1. Niveles máximos de micotoxinas toleradas en los cereales y en alimentos a base de maíz para consumo animal.

PAÍS	PRODUCTOS	MICOTOXINAS (µg/kg)
Argentina	Maíz y subproductos	AFB 1: 5 AFB1, AFB2, AFG1, AFG2: 20
Bosnia	Maíz, trigo, arroz y cereales	AFB1, AFG1 : 1
Brasil	Maíz	AFB1, AFG1: 30 ZEA: 200
Bulgaria	Cereales y subproductos	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2: 2.5
China	Maíz y aceite de maíz	AFB1: 20
Costa Rica	Maíz	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 : 35
Cuba	Cereales	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 : 5
Chipre	Cereales	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 : 10
Dinamarca	Cereales y subproductos	Ocratoxina A
República	Maíz y subproductos	AFB1, AFG1 : 0
Dominicana	maíz importado	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 : 20
Egipto	Cereales y subproductos	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2: 10 AFB1, AFB2, AFG1, AFG2: 20
Finlandia	Todos los alimentos	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 :5
Francia	Todos los alimentos	AFB1: 10
	Cereales	ZEA: 200 Ocratoxina A: 5
Alemania	Todos los alimentos	AFB1: 5
Grecia	Maíz	AFB1: 5
Guatemala	Maíz	Afs totales : 10
Honduras	Todos los alimentos	AFB1, AFG1, AFG2 :1
	Maíz	AFB1 : 1
Israel	Maíz y subproductos	AFB1: 5 AFB1, AFB2, AFG1 AFG2 : 15
Italia	Todos los alimentos	AFB1 :5 AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 : 10
Jamaica	Cereales	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 : 10
Jordania	Cereales y maíz	AFB1: 15 Afs Totales: 30
Macedonia	Maíz, trigo, arroz, cereales	AFB1, AFG1: 1
Nigeria	Todos los alimentos	AFB1 : 20
Países Bajos	Cereales y subproductos	Todas las micotoxinas: 0
Rusia	Cereales	AFB1 : 5 Zea : 1000 Toxina t-2 : 100, DON: 1000
Polonia	Todos los alimentos	AFB1: 0
Rumania	Todos los alimentos	AFB1:0 ZEA: 30 Patulina: 30
El Salvador	Todos los alimentos	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2: 20
Sudáfrica y España	" " "	AFB1: 5 AFB2, AFG1, AFG2: 10
Suecia	Todos los alimentos	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2: 5
Suiza	Maíz y cereales	AFB1: 2 AFB2, AFG1, AFG2: 5
	Productos a base de maíz	FB1 y FB2: 1000
Taiwán	Cereales	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2: 50
Uruguay	Cereales y maíz	Ocratoxina A: 50 ZEA: 200
Estados Unidos	todos los alimentos	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 : 20
Zimbawe	Maíz	AFB1:5 , AFG1: 4      Boutrif y Canet ( 1998)

## I. 6. Métodos de eliminación de micotoxinas en productos agrícolas

Los métodos de detoxificación de micotoxinas en productos agrícolas se pueden dividir en tres categorías: químicos, biológicos y físicos, (Charmley y Prelusky, 1994, Galvano y col., 2001).

### Métodos Químicos

Numerosos métodos químicos han sido propuestos para la destrucción o inactivación de las micotoxinas en insumos agrícolas contaminados naturalmente. Se han ensayado numerosos productos químicos como hidróxido de amonio, para lograr la detoxificación de estos insumos. Sin embargo, la mayoría de éstos métodos no satisfacen los criterios de aceptabilidad citados previamente; debido a que sí bien destruyen a las aflatoxinas, también disminuyen el valor nutricional del producto o producen metabolitos residuales tóxicos (Basappa y Shantha, 1996).

### Métodos Biológicos

Entre los métodos biológicos, la detoxificación microbiana es una alternativa para la reducción de los niveles de micotoxinas, en especial las Afs. Su efectividad se fundamenta en la presencia de un microorganismo controlador como la bacteria *Flavobacterium aurantiacum* (RRL B-184) o la acción de compuestos químicos específicos producidos por éste, que inhiben el crecimiento del hongo productor o directamente la producción de sus toxinas (Hao y col., 1989).



## Métodos Físicos

Los métodos físicos de destoxificación desarrollados son: la limpieza, la separación mecánica, el lavado, la segregación por densidad, la inactivación térmica, la irradiación, el ultrasonido, la extracción con solventes y la adsorción. La mayoría de éstos métodos se usan para remover a las aflatoxinas de los productos agrícolas, tales como cacahuete y alimentos para animales (López-García y Park, 1998; Jackson y Bullerman, 1999).

## Destoxificación mediante el uso de sustancias Adsorbentes

Los procesos utilizados en la elaboración de alimentos para animales generalmente no producen disminución en los niveles de las micotoxinas. El peleteado del alimento disminuye los niveles de AFs, pero no los de DON. El proceso de ensilado del maíz no destruye las AFs, ZEA, DON y OA (Scott, 1991).

Uno de los métodos más recientes propuestos para la prevención de las micotoxicosis, consiste en el uso de sustancias inertes, que se adicionan a los alimentos para animales durante el proceso de elaboración. Estas sustancias actúan posteriormente secuestrando las toxinas en el tracto gastrointestinal y reduciendo la biodisponibilidad de las mismas.

Una gran variedad de materiales adsorbentes, tales como, carbón activado, bentonitas, zeolitas, aluminosilicatos de sodio y calcio hidratado (HSCAS); otras variedades de arcillas, resinas sintéticas de intercambio iónico, como colestiramina y sustancias poliméricas como, polivinil-polipirrolidona han sido

evaluados exitosamente en la adsorción de numerosas micotoxinas; (Piva y col., 1995; Ramos y Hernández, 1997; Scott, 1998; Galvano y col., 1997, 1998; Huwig y col., 2001 ). Ciertos aluminosilicatos han mostrado capacidad para unir AFs en aceite de cacahuete y alimentos para animales (Machen y col., 1988). Sin embargo los efectos a largo plazo y la seguridad de los aluminosilicatos no han sido determinados. Es importante destacar, que no existe en la literatura suficiente evidencia de que éstas sustancias adsorbentes disminuyan significativamente el valor nutricional de las raciones, mediante el secuestro de vitaminas, aminoácidos y minerales esenciales (Ledoux y col., 1999).

### **I. 7. Metodología analítica para detección de micotoxinas.**

La determinación de micotoxinas se fundamenta en cuatro etapas: el muestreo, la extracción y limpieza, cuantificación y finalmente la confirmación. Para la determinación es necesario establecer un programa de muestreo eficiente para obtener resultados precisos, así como la preparación de las muestras. Una deficiente toma de muestra dará resultados erróneos y no se conocerá el nivel correcto de contaminación por la distribución irregular de las mismas.

La metodología para la cuantificación de la mayoría de las micotoxinas, en la actualidad es avanzada, variando los procedimientos según el alimento, la toxina y el equipo que se tenga en el laboratorio.

La técnica de cromatografía de capa fina (TLC) ha sido utilizada para separar e identificar y cuantificar las micotoxinas, requiere de limpieza de los extractos por lo que requiere de una columna cromatográfica para purificarlos. Los extractos son concentrados y las micotoxinas son detectadas con luz ultravioleta después de correr las muestras y estándares en una fase estacionaria por lo general de sílica gel y como fase móvil diversos solventes (Garza, 1994). Esta técnica por sus características se considera semicuantitativa y ha mostrado la desventaja de presentar gran variabilidad analítica (Montemayor, 1994).

Cromatografía de líquidos de alta precisión. Esta técnica ha demostrado ser de elección para la cuantificación de micotoxinas, llegando a detectar niveles en ppb ( $10^{-9}$  g), al igual que el método de TLC requiere de la purificación de los extractos y la separación en la columna cromatográfica a través de una fase móvil formada por diferentes solventes y al final la detección por luz ultravioleta o por fluorescencia. Sin embargo, requiere de alta inversión en equipo, de personal calificado y tiempo en las determinaciones, aunados a un alto costo de operación (Quattrocchi y col., 1992).

Con el desarrollo de la tecnología de anticuerpos monoclonales y policlonales en aplicaciones analíticas, particularmente en el terreno de las micotoxinas, es posible realizar análisis rápidos y confiables de micotoxinas a bajos costos. Las técnicas desarrolladas incluyen a los sistemas de inmunoensayos como ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima) y cromatografía mediante columnas de inmunoafinidad con detección fluorométrica (Pestka y col, 1995). Estas pruebas se basan en la reacción antígeno-anticuerpo.

Las pruebas de inmunoensayo enzimático (ELISA) pueden ser de manera directa, indirecta o por inmunoensayo enzimático competitivo, en esta última, la micotoxina libre y el conjugado de micotoxina-enzima compiten por los sitios del anticuerpo, posteriormente sea agrega un sustrato cromógeno y se encuba, la reacción se detiene y se realiza una medición fotométrica a 450 nm de longitud de onda en el Lector de ELISA.

El principio de las columnas de inmunoafinidad para el análisis de micotoxinas está dado por la presencia de anticuerpos en la columna, los cuales son específicos a cierta micotoxina. El extracto de una muestra se pasa a través de la columna y el anticuerpo retiene a la micotoxina, la cual posteriormente se recupera mediante el paso de un eluyente que desactiva el anticuerpo y deja libre a la micotoxina, que se cuantifica por fluorometría (Rhone diagnostics technologies, 1998; Bommeli, W. 1999).

### **1.8. El maíz (*Zea mays*) en México.**

La producción de maíz en México se desarrolla predominantemente en el ciclo de cultivo primavera-verano, bajo la modalidad de temporal con una participación de 81.7%, mientras que ciclo otoño-invierno representa el 18.3%. La importancia del maíz en el subsector agrícola se aprecia a través de su alta participación en la alimentación nacional, en la superficie sembrada y su peso relativo en el valor de la producción.

La oferta total de maíz grano en México esta determinada principalmente por la producción nacional y en menor medida por las importaciones, de tal manera que el grano nacional contribuye en promedio con el 86 % de la oferta total. El maíz se produce prácticamente en todos los estados de la republica, bajo un mosaico de formas y procedimientos productivos con diferentes grados de tecnificación y utilización de una amplia variedad de semillas, que se reflejan en las características del producto (Centro de Estadística Agropecuaria, SAGAR 2000a, SECOFI, CONAPO, CANAMAIZ).

En el periodo 1990-1998, la superficie sembrada de maíz representó en promedio el 52.8 % de la superficie nacional de los cultivos cíclicos en el año agrícola, cubriendo una superficie de 8.5% millones de hectáreas. Siendo los mejores productores los estados de Jalisco, Chiapas, Michoacán, Guerrero, Guanajuato y Veracruz, que en conjunto aportan el 50.1 % de la producción total del ciclo primavera-verano, con una producción promedio de 14.0 millones de toneladas a nivel nacional y de 3.1 millones de toneladas para el ciclo Otoño-Invierno (Centro de Estadística Agropecuaria, SAGAR, 2000b).

La producción de maíz se destina predominantemente al consumo humano y en menor medida, pero con volúmenes crecientes para el consumo pecuario e industrial. El consumo de la población depende de su industrialización y comercialización, lo que permite la generación productos que van desde la tortilla hasta los cereales de mesa, aceites comestibles, frituras, almidones y fructosa; Como alimento para

animales: en forma directa o es canalizado a la industria de alimentos balanceados, principalmente para aves y cerdos (Agro, 2000).

El consumo de maíz por la población mexicana representa el 72% del total producido, correspondiendo el 59.5% a consumo en tortillas, y en menor proporción a otros alimentos a base del mismo. El consumo per cápita se calcula de 300 g por día que aportan el 56 % de las calorías y el 47% de las proteínas en la alimentación del mexicano, en las áreas rurales estos porcentajes son del 76 % y 56 % respectivamente (González, 1995).

El estado de Jalisco, desde el punto vista agrícola se divide en cinco zonas: Centro, Costa, Sur, Valles y Valles-Altos que abarcan los 124 municipios. La zona Centro y Valles son las principales regiones maiceras, entre las cuales se encuentran Acatic, Ameca, Ixtlahuacán de los Membrillos y Villa Corona.

Acatic presenta una extensión territorial de 362.39 km<sup>2</sup> y su orografía se considera plana (42%) y semiplana (47%), y en una proporción menor (11%) zonas accidentadas. Sus recursos hidrológicos son proporcionados por los ríos y arroyos que conforman las subcuencas río Verde, Grande Belén y Santiago. El clima es semiseco, con otoño e invierno secos, y semicálido, sin cambio térmico invernal bien definido. La temperatura media anual es de 18.5 ° C, con máxima de 30.5 °C y mínima de 7.6 ° C (INEGI, 1998).

Ameca, de extensión territorial de 685.73 km<sup>2</sup>, presenta una orografía conformada por zonas planas (45%), semiplanas (40%) y accidentadas (15%). Sus recursos hidrológicos son proporcionados principalmente por el río Ameca y el río Muerto. El clima es semiseco, con invierno y primavera secos, y semicálido, sin cambio térmico invernal bien definido. La temperatura media anual es de 21.3 °C, con máxima de 30.7 °C y mínima de 11.9 °C (INEGI, 1998).

Ixtlahuacán de los Membrillos presenta una extensión territorial de 184.25 km<sup>2</sup> y su orografía se constituye por zonas planas (62%), semiplanas (20%) y accidentadas (18%). Sus recursos hidrológicos son proporcionados por el río Santiago; Los arroyos: Los Sabinos, Los Lobos, Agua Escondida. El clima es semiseco, con otoño e invierno secos y semicálido, sin cambio térmico invernal bien definido. La temperatura media anual es de 19.8 °C, con máxima de 25.2 °C y mínima de 14.6 °C (INEGI, 1998).

Villa Corona presenta una extensión territorial de 197.37 km<sup>2</sup> y su orografía se considera plana (42%) en su mayor parte, con altitudes entre los 900 y los 1,500 metros sobre el nivel del mar correspondientes al extremo de la sierra de Tapalpa y zonas semiplanas (42%). Sus recursos hidrológicos son proporcionados por los arroyos: Zarco, Colorado, La Compuerta y El Corral Falso; Por la Laguna de Atotonilco; los manantiales de aguas termales de Chimulco, Agua Caliente, El Tular, Las Delicias. El clima es semiseco y semicálido, sin cambio térmico invernal bien definido. Los meses más calurosos son mayo y junio. La temperatura media anual es de 20.5 °C, con máxima de 29 °C y mínima de 12.1 °C. La tabla 2 muestra la

producción agrícola y pecuaria anual reportadas por el sector agropecuario del 2001 (INEGI, 2002).

Tabla 2. Producción Agrícola y Pecuaria en Acatic, Ameca, Ixtlahuacán de los Membrillos y Villa Corona, Jalisco (2001).

Localidad	Superficie sembrada Has.	Producción * Toneladas	Bovinos leche	Bovinos carne	Cerdos	Ovinos y caprinos	Aves
Acatic	11,760	44,579	7,471	7,635	63,599	1,435	2,624
Ameca	20,459	72,996	10,639	51,115	8,332	9,995	301,412
Ixtlahuacán de los membrillos	10,313	29,547	9,233	10,795	8,428	2,347	265,655
Villa Corona	6,435	12,251	6,699	7,519	23,267	20,746	213,966

\* ciclo primavera-verano

Las variedades de cultivo bajo estudio corresponden al tipo semidentado, característica de germoplasma que puede adaptarse a las condiciones agroclimáticas del estado de Jalisco. La Tabla 3 muestra las principales características de las variedades UDG 600, 601 y 602.

Tabla 3. Características de tres variedades de híbridos de alto rendimiento de maíz (*Zea mays*)

CARACTERÍSTICAS <sup>a</sup>	VARIEDADES		
	UDG 600	UDG 601	UDG 602
Días a floración	65-70	70	60-65
Días a cosecha	150	150	130-140
Ciclo vegetativo	Intermedio-tardío I	Intermedio-tardío	Intermedio-tardío
Altura de la planta	2.20-2.50 m	2.20-2.40 m	2.20-2.30 m
Inserción de mazorca	1.20 m	1.20 m	1.10 m
Densidad de siembra	20 kg/ha	20 kg/ha	20 kg/ha
Color de grano	Blanco	Blanco	Blanco
Área de adaptación <sup>b</sup>	0 - 1,800	1 - 1,800	1 - 1,800

<sup>a</sup> por el Centro de investigaciones en producción de semillas (CIPROS) Universidad de Guadalajara

<sup>b</sup> metros sobre el nivel de mar



## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El impacto de las micotoxinas en la salud humana y animal se traduce en graves pérdidas económicas, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación estima que cada año el 25% de la producción agrícola destinada a los alimentos es afectada por las micotoxinas (Van-Egmond, 1999; Peraica y col., 1999).

Los principales efectos de la contaminación a cultivos agrícolas por micotoxinas son el aumento de los costos para los productores de granos ocasionados por un menor rendimiento, valor nutritivo e incremento en los costos de transporte. Para los ganaderos son: menor rendimiento de los animales, problemas en la reproducción, aumento en la incidencia de enfermedades, gastos en personal veterinario, aumento en los costos de descontaminación y pérdidas en los mercados. Para los distribuidores: incremento en los costos de procesos tales como secado, destoxicación y capacidad de almacenamiento; y para los industriales: pérdida de producto, costos de supervisión y análisis de micotoxinas en los productos (Postupolski y col., 1999; Osweiler, 2000; Hussein y Brasel, 2001).

En México se tienen pocos estudios sobre la contaminación de micotoxinas en el maíz, entre estos, se reporta alta contaminación por fumonisinas en algunas localidades del estado de Jalisco durante 1997 (Reyes y col. 2000). Las investigaciones a nivel mundial, muestran variaciones dependientes de la localización geográfica y de las condiciones climatológicas durante el cultivo (Riley y col. 1993).

### III. JUSTIFICACIÓN

Determinar el nivel de aflatoxinas, deoxinivalenol, fumonisinas, ocratoxinas y zearalenona, en Acatic, Ameca, Ixtlahuacán de los Membrillos y Villa Corona, zonas de gran importancia agrícola del estado de Jalisco permitirá estimar el grado de contaminación de dichas micotoxinas en el maíz, a fin de plantear estrategias para el control de micotoxicosis en humanos y animales.

Puesto que la contaminación de hongos productores de micotoxinas en campo es influenciada por los factores climatológicos que prevalecen durante el cultivo, y varía en forma anual, se pretende analizar las condiciones de temperatura y precipitación pluvial en cada localidad registradas por las estaciones meteorológicas para valorar si existe efecto sobre el desarrollo de hongos responsables de la producción de aflatoxinas, DON, fumonisinas, ocratoxinas y zearalenona.

Por otra parte, el estudio de variedades de maíz, representa en la actualidad un reto para los productores de semillas mejoradas respecto a la adaptabilidad en campo y la resistencia a determinados géneros de hongos fitopatógenos y micotoxigénicos, por lo que valorar las variedades de maíz UDG 600, 601 y 602 será de gran utilidad en el presente estudio.

#### IV. HIPÓTESIS

La contaminación por aflatoxinas, deoxinivalenol, fumonisinas, ocratoxinas y zearalenona varía en intensidad en las tres variedades de maíz cultivadas bajo diferentes condiciones climáticas de cada localidad.

## V. OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL:

Determinar los niveles de contaminación de aflatoxina, deoxinivalenol, fumonisina, ocratoxina y zearalenona en las variedades de maíz UDG 600, 601 y 602 cosechadas en cuatro localidades del estado de Jalisco.

### OBJETIVOS PARTICULARES:

1. Cuantificar los niveles de aflatoxina, deoxinivalenol, fumonisina, ocratoxina y zearalenona en maíz de las variedades UDG: 600, 601 y 602 al término de la cosecha en las localidades de Acatic, Ameca, Ixtlahuacán de los Membrillos y Villa Corona Jalisco, mediante cromatografía de inmunoafinidad.
2. Valorar las condiciones climatológicas (temperaturas y precipitación pluvial) durante el cultivo de maíz en las cuatro localidades de estudio.

## VI. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Residuos Tóxicos II del Departamento de Salud Pública, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara. Bajo un diseño completamente al azar se obtuvieron muestras de maíz al término de la cosecha en las localidades de Acatic, Ameca, Ixtlahuacán de los Membrillos y Villa Corona, Jalisco (ciclo primavera-verano de 1997), se recolectaron mazorcas de maíz de las variedades UDG-600, UDG-601 y UDG-602, nueve mazorcas por variedad y localidad (9 (Mazorcas) X 3 (Variedades) X 4 (Localidades)) (n=108). Las cuales se secaron y mantuvieron almacenadas a temperatura ambiente en frascos de polipropileno con un contenido de humedad menor a 10%.

La determinación de las micotoxinas (aflatoxina, deoxivalenol, fumonisina, ocratoxina y zearalenona) se realizó a partir de muestras compuestas de tres mazorcas previamente desgranadas con 3 repeticiones por determinación.

La detección y cuantificación de todas las micotoxinas se realizó mediante la técnica de CI (cromatografía por inmunoafinidad) y detección fluorométrica (Vicam), descrita por Ware y col. (1994).

La valoración de las condiciones climatológicas de temperatura; máxima, mínima y promedio, precipitación pluvial y evapotranspiración se realizó obteniendo los datos registrados durante el ciclo primavera-verano de 1997 en las estaciones

meteorológicas cercanas a las cuatro localidades de estudio proporcionados por la Comisión Nacional del Agua (CNA).

### **Técnica de Cromatografía por Inmunoafinidad y detección Fluorométrica:**

(Ware, y col., 1994)

#### **AFLATOXINAS**

1. Se colocan 50 g de muestra con 5 g de cloruro de sodio en licuadora. Se agregan 100 mL de metanol al 80% y licua a alta velocidad durante 1 minuto.
2. Se pasa a través de un filtro de papel aflautado y se colecta en un vaso de precipitado. 10 mL del extracto filtrado se diluyen con 40 mL de agua destilada.
3. Se filtra el extracto diluido a través de papel microfibra de vidrio y 10 mL del extracto filtrado se agregan a la columna de inmunoafinidad.
4. Se lava dos veces la columna con 10 mL de agua destilada.
5. Se realiza la elución de la micotoxina con 1 mL de metanol grado HPLC y colecta en una cubeta especial de vidrio para fluorómetro. Se añade 1 mL del revelador Aflatest y se lee la concentración en el fluorómetro.

#### **DON**

1. Se colocan 50 g de muestra con 5 g de cloruro de sodio en licuadora. Se agregan 200 mL de agua destilada y licua a alta velocidad durante 1 minuto.
2. Se pasa a través de un filtro de papel aflautado, se realiza una segunda filtración en papel microfibra de vidrio.
3. Se agregan 6 mL del extracto filtrado a la columna de inmunoafinidad.
4. Se lava dos veces la columna con 10 mL de agua destilada.
5. Transferir la columna a una jeringa de vidrio seca.

6. Se realiza la elución de la micotoxina con 0.75 mL de metanol grado HPLC y colecta en una cubeta especial de vidrio para fluorómetro.
7. Se transfieren 0.5 mL del eluato a un segundo tubo fluorométrico, se añaden 0.5 mL de metanol grado HPLC, posteriormente 0.5 mL del revelador A y 0.5 mL del revelador B y se mezcla en vortex por 5 segundos. Se lee la concentración en el fluorómetro.

### **FUMONISINAS**

1. Se colocan 50 g de muestra con 5 g de cloruro de sodio en licuadora. Se agregan 100 mL de metanol al 80% y licua a alta velocidad durante 1 minuto.
2. Se pasa a través de un filtro de papel aflautado y se colecta en un vaso de precipitado. 10 mL del extracto filtrado se diluyen con 40 mL de solución 0.1% Tween PBS.
3. Se filtra el extracto diluido a través de filtro microfibra y 10 mL del extracto filtrado se agregan a la columna de inmovoafinidad.
4. Se lava la columna con 10 mL de solución 0.1% Tween PBS y un segundo lavado con 10 mL de agua destilada.
5. Se realiza la elución de la micotoxina con 1 mL de metanol grado HPLC y colecta en una cubeta especial de vidrio para fluorómetro. Se añade 1 mL del revelador Fumonitest y se lee la concentración.

### **OCRATOXINAS**

1. Se colocan 50 g de muestra con 5 g de cloruro de sodio en licuadora. Se agregan 100 mL de metanol al 80% y licua a alta velocidad durante 1 minuto.
2. Se pasa a través de un filtro de papel aflautado y se colecta en un vaso de precipitado. 10 mL del extracto filtrado se diluyen con 40 mL de agua destilada.

3. Se filtra el extracto diluido a través de filtro microfibras y 10 mL del extracto filtrado se agregan a la columna de inmunoafinidad.
4. Se lava la columna con 10 mL de buffer de lavado para micotoxinas y posteriormente con 10 mL de agua destilada.
5. Se realiza la elución de la micotoxina con 1.5 mL con solución de Ocratest y colecta en una cubeta especial de vidrio para fluorómetro y se lee la concentración.

#### **ZEARALENONA**

1. Se colocan 20 g de muestra con 2 g de cloruro de sodio en licuadora. Se agregan 50 mL de metanol al 80% y licua a alta velocidad durante 2 minutos.
2. Se pasa a través de un filtro de papel aludado y se colecta en un vaso de precipitado. 10 mL del extracto filtrado se diluyen con 40 mL de solución 0.1% Tween PBS.
3. Se filtra el extracto diluido a través de filtro microfibras y 10 mL del extracto filtrado se agregan a la columna de inmunoafinidad.
4. Se lava la columna con 10 mL de solución 0.1% Tween PBS y un segundo lavado con 10 mL de agua destilada.
5. Se realiza la elución de la micotoxina con 1 mL de metanol grado HPLC y colecta en una cubeta especial de vidrio para fluorómetro. Se añade 1 mL del revelador Z y se lee la concentración en el fluorómetro.

Los resultados se compararon mediante un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey a un nivel de confianza de 95 y 99%. Se compararon de acuerdo al tipo de variedad y entre localidades, agrupados y en forma global.



## VII. RESULTADOS

Se encontró contaminación por DON, fumonisinas, ocratoxinas y zearalenona en el 100% del maíz analizado. No se detectó aflatoxinas en ninguna variedad ni localidad.

Los resultados se presentan por micotoxina, variedad de maíz y localidad.

### MICOTOXINAS

#### Deoxinivalenol (DON)

Los resultados de los niveles de DON en maíz se presentan en las tablas 4 (por localidad) y 5 (por variedad). Los niveles presentes variaron de 2.8 a 36 ppm. Se observó diferencia significativa entre localidades ( $p < 0.05$ ), presentando la mayor contaminación Acatic ( $\bar{x} = 11.22$  ppm) y la menor Villa Corona ( $\bar{x} = 3.5$  ppm) (Figura 6). Cuando se compararon los niveles entre variedades, la UDG 600 presentó los valores mayores de DON y los menores la UDG 602, sin existir diferencia estadística ( $p > 0.05$ ) respecto a las otras variedades (Figura 7).

Tabla 4. Niveles de concentración de DON en maíz de 4 localidades del estado de Jalisco

Ppm	Acatic	Ameca	Ixtlahuacán de los membrillos	Villa Corona
Promedio	11.22 a	7.88 ab	6.5 ab	3.5 b
Máximo	36	11	12	4.9
Mínimo	3.8	4.7	3.6	2.8
S	10.19	2.1	3.25	0.76
C.V.	0.91	0.27	0.50	0.22

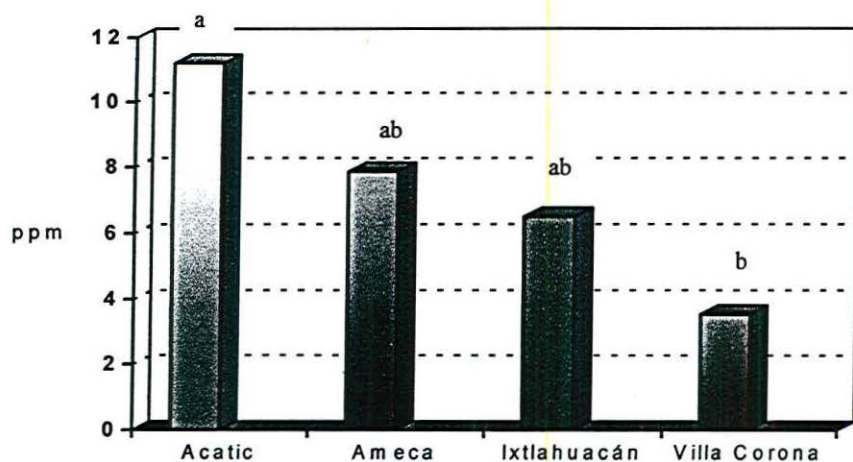
s: desviación estándar C.V.: coeficiente de variación ppm: partes por millón.  
Las literales a, b indican diferencia estadística  $p < 0.05$ .  $n = 27$ .

Tabla 5. Concentración de DON en tres variedades de maíz cosechadas en el estado de Jalisco

ppm	UDG 600	UDG 601	UDG 602
Promedio	8.93	7.07	5.86
Máximo	36	16	11
Mínimo	2.8	2.8	2.9
S	8.99	4.18	2.87
C.V.	1.0	0.59	0.49

s: desviación estándar C.V.: coeficiente de variación ppm: partes por millón n= 36

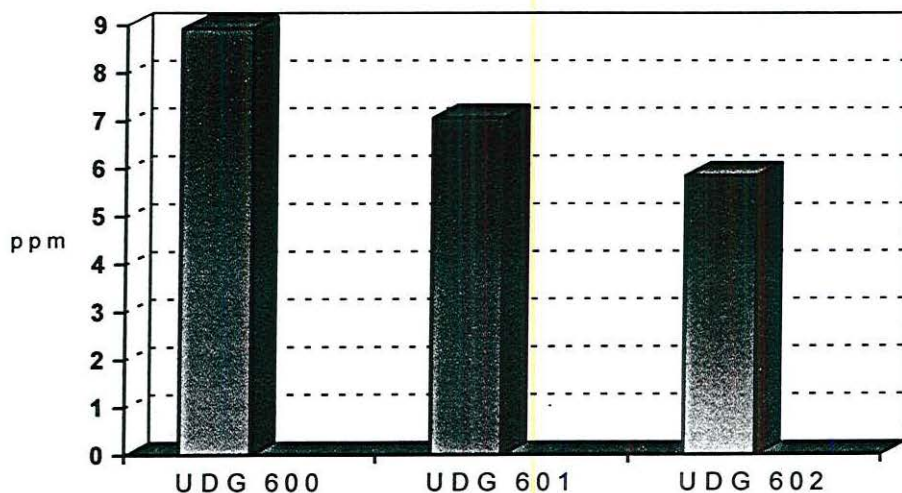
Figura 6. Niveles de DON detectados en 4 localidades del estado de Jalisco



ppm: partes por millón.

Las literales a y b indican diferencia estadística ( $p < 0.05$ )

Figura 7. Niveles de DON detectados en las variedades de maíz UDG 600, 601 Y 602



ppm: partes por millón

### Fumonisinias

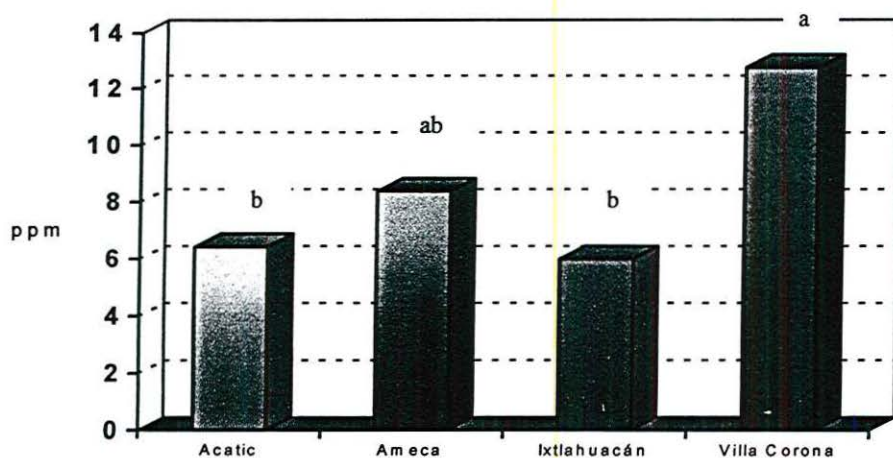
La contaminación por fumonisinias en las diferentes localidades mostró niveles que fluctuaron de 1.7 a 24 ppm (Tabla 6). La mayor contaminación se presentó en Villa Corona ( $\bar{x}=12.74$  ppm), diferente significativamente ( $p<0.05$ ) con Acatic e Ixtlahuacán de los Membrillos (Figura 8).

Tabla 6. Niveles de Fumonisinás detectados en maíz de 4 localidades del estado de Jalisco

ppm	Acatic	Ameca	Ixtlahuacán de los Membrillos	Villa Corona
Promedio	6.43b	8.38ab	6.0b	12.74a
Máximo	12	17	19	24
Mínimo	1.9	5.1	1.7	6.1
s	3.79	4.17	5.17	6.97
C.V.	0.59	0.49	0.86	0.59

s: desviación estándar C.V.: coeficiente de variación ppm: partes por millón  
Las literales a y b indican diferencia estadística  $p < 0.05$ .  $n = 27$

Figura 8. Niveles de Fumonisinás detectados en 4 localidades del estado de Jalisco



ppm: partes por millón.  
Las literales a y b indican diferencia estadística  $p < 0.05$ .

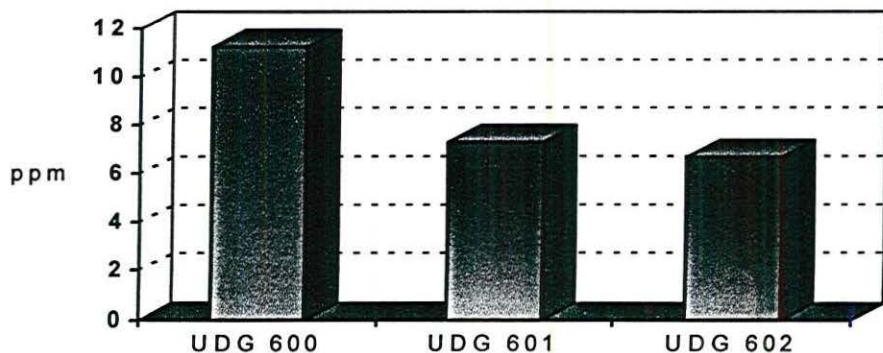
La tabla 7 muestra los niveles promedio de las variedades analizadas, la UDG 600 presentó los niveles mayores de fumonisinas ( $\bar{x}=11.24$  ppm) y los menores la variedad UDG 602 ( $\bar{x}= 6.66$  ppm) sin diferencia estadística ( $p>0.05$ ) entre variedades (Figura 9).

Tabla 7. Niveles de fumonisinas en tres variedades de maíz cosechadas en el estado de Jalisco

ppm	UDG 600	UDG 601	UDG 602
Promedio	11.24	7.23	6.66
Máximo	24	20	14
Mínimo	1.9	1.7	2.5
S	7.44	4.60	3.35
C.V.	0.66	0.63	0.50

s: desviación estándar C.V.: coeficiente de variación ppm: partes por millón n=36

Figura 9. Niveles de Fumonisinás detectados en las variedades de maíz UDG 600, 601 y 602



ppm: partes por millón

### Ocratoxina

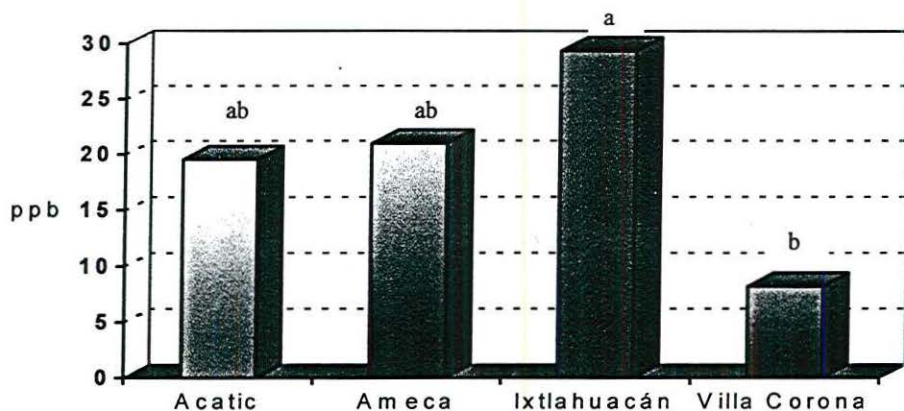
La detección de ocratoxina presentó valores entre 1.1 a 50 ppb (Tabla 8) existiendo diferencia estadística entre localidades ( $p < 0.05$ ), correspondiendo a Villa Corona la menor contaminación (Figura 10) con niveles de 8.28 ppb y la mayor a Ixtlahuacán de los Membrillos con 29.42 ppb. Cuando se comparó entre variedades, UDG 601 mostró la mayor concentración por ocratoxina, diferente significativamente ( $p < 0.05$ ) con UDG 600 y 602, las cuales fueron similares entre sí respecto a la contaminación (Tabla 9, Figura 11).

Tabla 8. Presencia de Ocratoxinas en maíz de 4 localidades del estado de Jalisco

ppb	Acatic	Ameca	Ixtlahuacán de los Membrillos	Villa Corona
Promedio	19.58ab	21ab	29.42a	8.28b
Máximo	50	26	40	9.7
Mínimo	3.0	18	1.1	5.6
s	16.32	2.59	14.91	1.52
C.V.	0.83	0.12	0.51	0.18

s: desviación estándar C.V.: coeficiente de variación ppb: partes por billón  
Las literales a y b indican diferencia estadística  $p < 0.05$ . n=27

Figura 10. Niveles de concentración de Ocratoxinas detectados en 4 localidades del estado de Jalisco



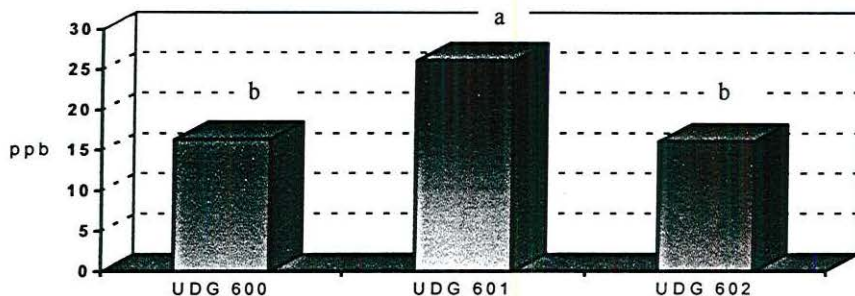
ppm: partes por millón

Tabla 9. Detección de Ocratoxinas en tres variedades de maíz cosechadas en el estado de Jalisco

ppb	UDG 600	UDG 601	UDG 602
Promedio	16.417 b	26.175 a	16.117 b
Máximo	37	50	35
Mínimo	1.3	7.9	1.1
s	13.343	14.085	9.974
C.V.	0.812	0.538	0.618

s: desviación estándar C.V.: coeficiente de variación ppb: partes por billón n=36

Figura 11. Niveles de Ocratoxinas detectados en las variedades de maíz UDG 600, 601 y 602



ppb: partes por billón.

Las literales a y b indican diferencia estadística  $n < 0.05$

### Zearalenona

La contaminación por zearalenona fue mínima, los niveles se encontraron de 0.004 a 0.870 ppm. La tabla 10 y figura 12 muestran los niveles observados en las diferentes localidades, sin presentarse diferencia estadística ( $p > 0.05$ ). La variedad UDG 601 mostró contaminación significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que las variedades UDG 600 y 602 (Tabla 11, figura 13).

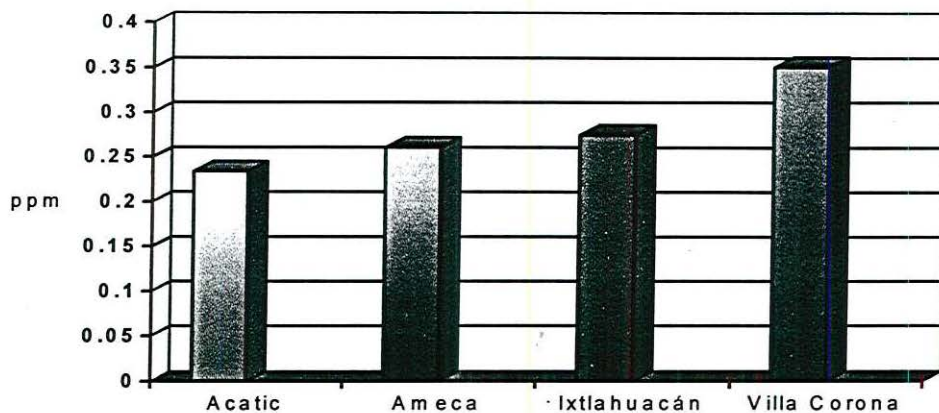
Tabla 10. Niveles de Zearalenona detectados en maíz de 4 localidades del estado de Jalisco

Ppm	Acatic	Ameca	Ixtlahuacán los membrillos	Villa Corona
Promedio	0.234	0.261	0.275	0.351
Máximo	0.700	0.480	0.870	0.640
Mínimo	0.004	0.150	0.080	0.220
S	0.227	0.117	0.278	0.141
C.V.	0.968	0.448	1.048	0.401

s: desviación estándar C.V.: coeficiente de variación ppm: partes por millón  $n = 27$



Figura 12. Niveles de Zearalenona detectados en 4 localidades del estado de Jalisco



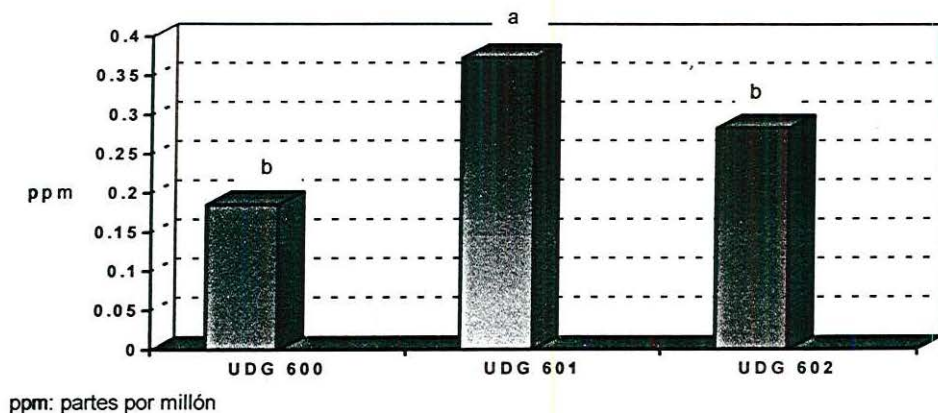
ppm: partes por millón

Tabla 11. Detección de Zearalenona en tres variedades de maíz cosechadas en el estado de Jalisco

ppm	UDG 600	UDG 601	UDG 602
Promedio	0.185	0.373	0.283
Máximo	0.48	0.87	0.64
Mínimo	0.04	0.12	0.08
S	0.119	0.226	0.198
C.V.	0.643	0.606	0.70

s: desviación estándar C.V.: coeficiente de variación ppm: partes por millón n=36

Figura 13. Niveles de concentración de zearalenona detectados en las variedades UDG 600, 601 y 602



## VARIETADES DE MAÍZ

La tabla 12 y la figura 14 presentan la concentración de micotoxinas agrupadas por variedad. Cuando los valores fueron analizados en forma global, se observó mayor contaminación de DON y fumonisinas en la variedad UDG 600, mientras que ocratoxina presentó los niveles mayores en la variedad UDG 601.

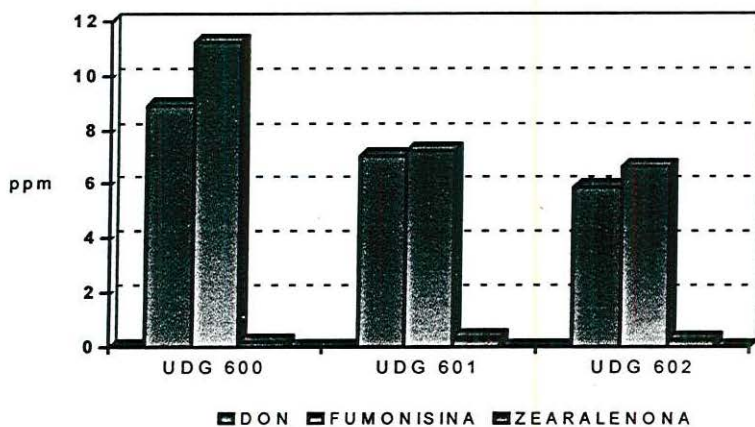
Además se analizaron los niveles de cada micotoxina de acuerdo a cada variedad y en cada localidad, los resultados se resumen en la tabla 13, encontrándose diferencias estadísticas en Acatic para ocratoxinas y en Ameca para fumonisinas y ocratoxinas.

Tabla 12. Niveles de micotoxinas en las tres variedades de maíz estudiadas.

MICOTOXINA	UDG 600	UDG 601	UDG 602
DON *	8.93	7.07	5.86
Fumonisin * *	11.24	7.28	6.66
Zearalenona *	0.19	0.37	0.28
Ocratoxina **	16.42	26.18	16.12

\* ppm: partes por millón \*\* ppb: partes por billón n=36

Figura 14. Niveles de micotoxinas en las tres variedades de maíz analizadas.



ppm: partes por millón

Tabla 13. Niveles de concentración de micotoxinas en las diferentes variedades de maíz y localidades estudiadas en el estado de Jalisco.

Variedad	Acatic		Ameca		Ixtlahuacán M.		Villa Corona	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
<b>DEOXINIVALENOL (ppm)</b>								
UDG 600	16.17	17.21	7.1	3.41	8.93	3.0	3.53	0.70
UDG 601	12.53	4.39	7.67	1.62	4.1	0.5	3.97	1.07
UDG 602	4.97	1.46	8.87	0.99	6.47	3.93	3.13	0.40
<b>FUMONISINAS (ppm)</b>								
UDG 600	4.57	4.53	12.8 a	4.91	9.7	8.06	17.9	7.38
UDG 601	7.53	3.13	6.67 b	0.57	3.53	1.65	11.36	7.54
UDG 602	7.2	4.39	5.7 b	0.87	4.77	2.73	8.97	4.37
<b>OCRATOXINAS (ppb)</b>								
UDG 600	2.73 c	1.32	19.67 b	1.53	35.67	1.53	7.6	1.91
UDG 601	37.66 a	12.01	19.33 b	0.58	38.67	1.53	9.03	0.99
UDG 602	18.33 b	0.58	24 a	2.0	13.93	18.38	8.2	1.74
<b>ZEARALENONA (ppm)</b>								
UDG 600	0.11	0.09	0.32	0.14	0.1	0.01	0.22 b	1.83
UDG 601	0.35	0.31	0.3	0.12	0.51	0.36	0.33 ab	0.06
UDG 602	0.25	0.75	0.17	0.02	0.22	0.21	0.49 a	0.14

$\bar{x}$  : promedio s: desviación estándar Las literales a y b indican diferencia estadística  $p < 0.05$   $n=108$

## LOCALIDADES

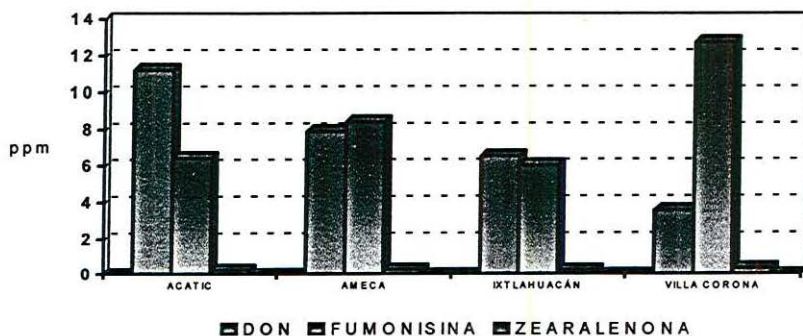
La tabla 14 muestra la concentración de micotoxinas por localidad, mostrando Acatic los mayores niveles de DON (11.22 ppm); Ixtlahuacán de los Membrillos de ocratoxinas (29.42 ppb); y Villa Corona de fumonisinas (12.74 ppm) y zearalenona (0.35 ppm). En la figura 15 se observan los valores en ppm de DON, fumonisinas y zearalenona.

Tabla 14. Niveles de micotoxinas presentes en el maíz de las localidades estudiadas

	Acatic	Ameca	Ixtlahuacán de los membrillos	Villa Corona
DON *	11.22	7.88	6.5	3.54
Fumonisinias *	6.43	8.39	6.0	12.74
Zearalenona *	0.23	0.26	0.25	0.35
Ocratoxina **	19.58	21.0	29.42	8.28

\* ppm: partes por millón \*\* ppb: partes por billón n=27

Figura 15. Niveles de micotoxinas en las 4 localidades del estado de Jalisco.



\* ppm: partes por millón

## CONDICIONES AMBIENTALES

La tabla 15 muestra las temperaturas reportadas durante el ciclo primavera-verano 1997 en las cuatro localidades evaluadas. Los registros obtenidos se presentan tanto para máximas, mínimas y promedio por quincena. El rango de temperaturas máximas en Acatic fue de 25.7 a 31.7°C; en Ameca de 30.2 a 37°C; Ixtlahuacán de los Membrillos de 27.5 a 30.8°C; y en Villa Corona de 28.7 a 33°C. Las temperaturas mínimas disminuyeron en las localidades en forma similar la segunda quincena de

octubre (figura 18), registrando la menor temperatura Ixtlahuacán de los Membrillos (4.5°C). Las temperaturas promedios se mantuvieron en un rango de 16 a 23°C en Acatic; de 19.7 a 27.7°C en Ameca; en 16.7 a 23.9°C en Ixtlahuacán y de 18.1 a 24.2°C en Villa Corona, Jalisco.

La precipitación pluvial en las distintas localidades se presenta en la tabla 16. Los niveles registrados en mm son los acumulados por cada 10 días. Se observó alta precipitación en Acatic durante la tercera decena de junio y primera de julio, posteriormente se mantuvo constante, excepto por la segunda decena de octubre, cuando se incrementó nuevamente (figura 19). En las otras localidades la precipitación pluvial mostró mínimas variaciones y en todas no se registraron durante la última decena (21 al 30 de noviembre).

Tabla 15. Temperaturas registradas en Acatic, Ameca, Ixtlahuacán de los Membrillos y Villa Corona durante el ciclo primavera – verano 1997.

Fecha	ACATIC			AMECA			IXTLAHUACÁN			VILLA CORONA		
	máx	$\bar{x}$	mín	máx	$\bar{x}$	mín	máx	$\bar{x}$	mín	máx	$\bar{x}$	mín
1ª jun	31.7	23.2	14.7	37.5	27.7	18.0	30.8	23.9	16.9	33.0	24.2	15.4
2ª jun	26.9	21.6	16.2	33.7	26.5	19.4	27.6	22.9	18.2	30.2	23.6	17.0
1ª jul	26.3	20.9	15.4	32.0	25.2	18.3	27.8	23.0	18.1	29.1	22.6	16.0
2ª jul	26.7	20.9	15.2	32.2	25.2	18.1	28.1	23.0	17.8	29.8	23.1	16.3
1ª ag	27.2	20.8	14.5	32.1	25.4	18.7	28.5	23.2	17.8	29.1	22.5	15.9
2ª ag	27.1	20.4	13.6	32.6	25.6	18.6	28.5	22.7	17.0	29.6	22.2	14.7
1ª sep	25.7	19.7	13.8	32.0	25.2	18.3	27.5	22.3	17.1	29.6	23.0	16.3
2ª sep	27.1	20.8	14.4	32.5	25.8	19.1	28.0	22.7	17.4	30.2	23.2	16.2
1ª oct	26.4	20.0	13.6	32.3	24.8	17.4	28.6	22.7	16.7	29.5	22.7	15.9
2ª oct	25.8	16.1	6.4	31.6	21.3	10.9	29.1	17.0	4.9	28.7	18.5	8.2
1ª nov	26.4	18.2	9.9	30.2	21.8	13.4	29.0	17.1	5.2	28.8	20.1	11.4
2ª nov	26.1	16.0	5.8	31.2	19.7	8.2	28.8	16.7	4.5	29.0	18.1	7.2

1ª: promedio de primera quincena 2ª: promedio de segunda quincena máx: máxima  $\bar{x}$ : promedio mín: mínima.

Figura 16 Temperaturas promedio registradas durante el ciclo primavera-verano 1997

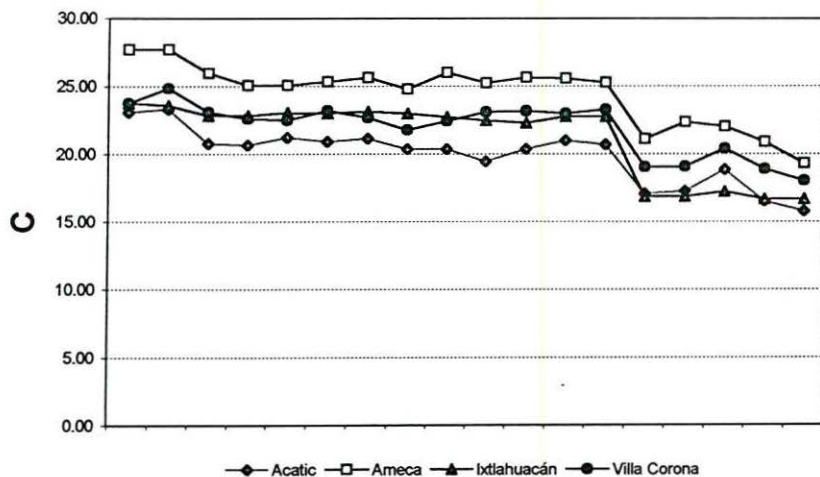


Figura 17. Precipitación pluvial acumulada durante el ciclo primavera-verano 1997

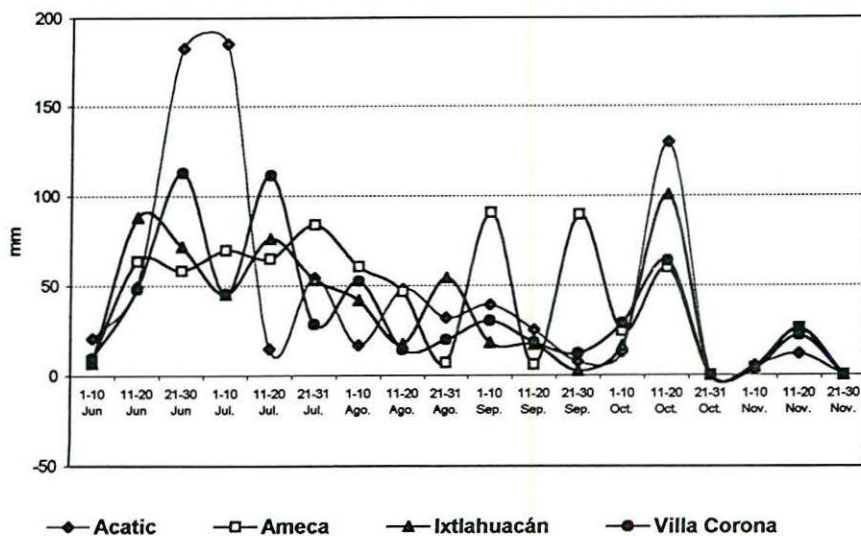


Tabla 16. Precipitación pluvial acumulada (mm) durante el ciclo primavera-verano 1997

<b>Fecha</b>	<b>Acatic</b>	<b>Ameca</b>	<b>Ixtlahuacán de los membrillos</b>	<b>Villa Corona</b>
1-10 junio	20.8	8.5	7.1	9.5
11-20 junio	49.4	63.5	88.1	48
21-30 junio	183	58.4	71.7	113
1-10 julio	185.6	69.7	45.1	45.5
11-20 julio	14.8	65	76.2	111.5
21-31 julio	54.5	84	53.4	28.4
1-10 agosto	16.7	60.5	41.8	52.5
11-20 agosto	48	46.7	17.4	14.3
21-31 agosto	32	7.1	54.3	20
1-10 septiembre	39.4	90.5	18.3	30.5
11-20 septiembre	25.4	6	17.2	18.5
21-30 septiembre	7.6	89.5	2.6	12
1-10 octubre	12.9	24.7	16.4	29
11-20 octubre	129.8	60	100.7	64
21-31 octubre	0	0	0	0
1-10 noviembre	5.4	4.1	4.8	3.5
11-20 noviembre	11.8	26	25.8	22
21-30 noviembre	0	0	0	0



## VIII. DISCUSIÓN

La contaminación por DON, fumonisinas, ocratoxinas y zearalenona en el 100% de las muestras analizadas es indicativo de la alta ocurrencia de micotoxinas en el maíz, lo cual ha sido reportado a nivel mundial por Boutrif y Canet, (1998).

No se encontró la presencia de aflatoxinas en el maíz, posiblemente a causa de que el cereal fue almacenado al término de la cosecha en frascos de polipropileno una vez que alcanzó un porcentaje de humedad menor a 11%, lo que pudo evitar la contaminación por especies de *Aspergillus* productoras de aflatoxinas, especies consideradas de almacén, que requieren condiciones propicias de humedad superiores a 13%, temperaturas de 25 a 30°C, además de verse favorecidas por la actividad de insectos y roedores que dañan al grano (Gourama y Bullerman, 1995).

Se tienen reportes de la contaminación mundial por DON en cereales, destacando en trigo y maíz. En Estados Unidos los niveles fluctuaron de 0.1 a 42 ppm en maíz durante 1981, mientras que en trigo la concentración fue de 0.02 a 9 ppm. En China se reportó contaminación de 1 a 40 ppm; en el Reino Unido de 0.01 a 0.36 ppm; en Francia de 0.6 a 0.14 ppm y en Argentina de 0.20 a 0.40 ppm (FAO/OMS, 1999). Recientes investigaciones en Turquía mostraron niveles de 2.67 ppm en harina de maíz (Omurtag y Boyoglu, 2003).

Los niveles encontrados de DON en el presente estudio son mayores a los reportados en Chile, por Vega y col. (2000), quienes encuentran valores de 0.8 a 5.3 ppm.

Contaminaciones correspondientes a 2.5 y 4.9 ppm de DON durante 10 semanas, provocaron anomalías significativas en el desarrollo del pollo, (Bergsjö y col., 1993). Mientras que en vacas lecheras niveles entre 6 y 12 ppm suministradas durante el mismo tiempo provocaron disminución significativa de la producción lechera y de la grasa en leche (Charmley, y col., 1993), por lo que los niveles detectados en el presente estudio son de alto riesgo a la salud de humanos y animales.

Los niveles presentes de DON en el maíz de las tres variedades y en las cuatro localidades fueron elevados si se comparan con los niveles preventivos recomendados por FDA para humanos y animales (Scott, 1994), que son de 1 ppm en productos de cereales (especialmente trigo) para consumo humano; de 10 ppm en cereales y subproductos destinados al ganado vacuno y aves de corral; y de 5 ppm para cerdos, perros y gatos (Mirocha, 1999).

La contaminación por fumonisinas presentó niveles promedio mayores a los tolerables en humanos (2 ppm) y para algunas especies de animales (equinos 5 ppm y cerdos 10 ppm) (FDA 2002), semejantes a lo que se ha encontrado en otros países, tal es el caso de regiones de Sudáfrica, China e India, donde existe asociación de altos niveles de fumonisinas en maíz con la mayor incidencia de cáncer esofágico en humanos. En Transkei, Sudáfrica, región de alta incidencia de

cáncer, se reportan niveles de 10.5 ppm de fumonisinas en maíz aparentemente sano y de 0.6 a 63.2 ppm en maíz mohoso (Hopmans y col., 1993). En otros países los niveles varían considerablemente, en Italia los niveles presentes fueron de 0.01 a 6.8 ppm (Doko y Visconti, 1993); en China, Japón y Nepal se encontraron valores de 0.6 a 4.1 ppm (Ueno y col., 1993).

Se han realizado numerosos estudios respecto a la contaminación por fumonisinas, ya que dichas micotoxinas han demostrado ser importantes promotoras de cáncer, destacándose la contaminación a nivel mundial, en especial en el maíz y productos derivados, lo que indica que existe mínima eficiencia de descontaminación por los procesos de elaboración de productos a base de maíz (Bullerman y Tsai, 1994). En México, ha sido evaluado el proceso de nixtamalización sobre los niveles de fumonisinas y la producción de hidrolizados, encontrándose la presencia tanto de la toxina original como de hidrolizados, de mayor toxicidad, la concentración en tortilla para FB<sub>1</sub> fue de 4.36 ppm, FB<sub>2</sub> de 0.051 ppm y de hidrolizado de FB<sub>1</sub> de 0.874 ppm (Reyes y col., 2002). Sustentándose en los valores permitidos, los cuales superan a los niveles tolerables que recomienda la FDA (4 ppm de fumonisinas en producto de masas de maíz) (FDA 2002).

La concentración de ocratoxinas en las tres variedades de maíz sobrepasa los límites tolerables para la alimentación de humanos (5 ppb), gallinas ponedoras (10 ppb); cerdos y pollos (25 a 50 ppb) (Gimeno, 2001), niveles que se presentaron en algunas localidades del estudio. En bovinos no existe información suficiente sobre la acción tóxica de la ocratoxina A, posiblemente por la acción de la microflora ruminal que la

metaboliza e hidroliza en ocratoxina  $\alpha$  que no es tóxica y no se degrada, efecto que puede ocurrir con otros rumiantes (Gimeno 2002).

Desde que se publicaron datos sobre la genotoxicidad de la ocratoxina A, investigadores equiparan el riesgo de esta micotoxina con la aflatoxina, lo que ha provocado incremento en los estudios relacionados con la contaminación de la ocratoxina A. Además de ser una toxina renal carcinogénica, teratogénica e inmunotóxica, se sabe que causa nefropatía en cerdos y probable asociación con la enfermedad renal humana denominada "nefropatía endémica de los Balcanes" y en los tumores del tracto urinario (Frank, 1999).

La incidencia de ocratoxina se reporta en cereales, en carne y productos cárnicos, vino, legumbres, cerveza, frutas secas y café. En Europa existe gran interés sobre la reglamentación de los niveles de ocratoxina en dichos alimentos, lográndose a la fecha como recomendación el límite tolerable de 5 ppb para la Comunidad Económica Europea (Slayne,2000).

Los niveles de zearalenona fueron relativamente bajos, si se consideran los niveles recomendados para pollos y gallinas, los cuales requieren dosis elevadas para presentar trastornos a la salud. La  $DL_{50}$  en pollitos es de 15 ppm mediante administración oral (Mirocha y col. 1978), sin embargo, en otras especies como cerdos, niveles entre 100 y 200 ppb pueden ocasionar problemas de fertilidad. También se tienen reportes de problemas estrogénicos en cerdas gestantes que consumieron niveles de zearalenona de 500 ppb y en cerdas en lactación con niveles

de 250 ppb, evidentemente, estos trastornos se relacionan con la duración de la ingesta del alimento contaminado y la sensibilidad de las cerdas según la raza, pudiendo haber casos donde alguna de estas concentraciones no afecte significativamente (Gimeno, 2000).

En bovinos productores de leche, se sugiere que la concentración de zearalenona máxima tolerable no debe exceder los 250 ppb en la ración final, ya que los problemas además de la disminución de la producción lechera pueden llegar a ocasionar abortos.

En Latinoamérica se tienen pocos reportes de la contaminación por ZEA en granos, escasamente los estudios realizados en Chile indican una contaminación de 0.3 ppb a 31 ppb (Vega y col. 2000).

Debido a la alta actividad biológica de la zearalenona y a la frecuencia en los cereales, especialmente en trigo y maíz nueve países han establecido niveles máximos tolerables de zearalenona en alimentos que varían de 0 a 1000 ppb. Entre estos, Brasil, Francia y Uruguay establecen 200 ppb en cereales como el maíz y trigo. Cuando se trata de alimentación para cerdos, no se debe suministrar niveles mayores de 1 ppm (FAO/OMS/PNUMA, 1999). En México no se han establecido niveles tolerables, por lo que deben impulsarse estudios en el futuro que permitan determinar dichos niveles.

Cuando los niveles de las micotoxinas se analizaron comparativamente entre las variedades de maíz se encontraron diferencias en algunas localidades y aún cuando

fue significativa ( $p < 0.05$ ) todos los niveles de concentración en las tres variedades estudiadas fueron de riesgo a la salud. DON y ZEA no mostraron diferencias entre variedades. Estos resultados posiblemente se deben a que los genotipos de las variedades estudiadas fueron similares, cuyo germoplasma es de tipo semidentado, presentando solo variación respecto a un menor tiempo de cosecha la variedad UDG 602 (130 – 140 días) mientras que las variedades UDG 600 y 6001 tienen un periodo de cosecha de 150 días; lo cual aparentemente no influyó sobre los niveles de contaminación de las micotoxinas.

Todas las localidades estudiadas (Acatic, Ameca, Ixtlahuacan de los membrillos y Villa Corona) en el estado de Jalisco presentaron contaminación por DON, fumonisinas, ocratoxinas, y zearalenona siendo mayor la concentración de fumonisinas en Villa Corona, mientras que las otras micotoxinas se presentaron en niveles similares en las otras localidades y en todos los casos los valores son de impacto a la salud principalmente para humanos.

Los niveles de micotoxinas en el maíz pueden fluctuar considerablemente de un año a otro, en función de numerosos factores como por ejemplo las condiciones ambientales desfavorables que incrementan la invasión por hongos y la proliferación de estos ya sea en campo o durante el almacenamiento (FAO/OMS/PNUMA, 1999).

Las condiciones climáticas de temperatura y humedad relativa registradas durante el ciclo de cultivo primavera-verano 1997, fueron similares en las cuatro localidades bajo estudio, condiciones consideradas apropiadas para el desarrollo de la planta y el rendimiento de maíz, condiciones que también son favorables para el desarrollo de

hongos productores de micotoxinas, ya que las especies *Fusarium verticillioides* y *F. proliferatum*, principales productores de fumonisinas requieren como temperatura óptima de crecimiento 27°C; *F. graminearum* (*roseum*), principal productor de DON y zearalenona, requiere de 24 a 27°C para su desarrollo, no obstante, la producción de zearalenona se efectúa principalmente a temperaturas entre 10 y 12°C, sin embargo, parece ser que se han encontrado variedades de *Fusarium roseum*, como *F. roseum* "gibbosum" y "semitectum" que han sido capaces de producir en granos de sorgo a 25°C, cantidades de zearalenona equivalentes a las producidas a la temperatura de 10°C (Gimeno, 2000).

En el presente estudio se encontraron niveles preocupantes de DON, fumonisinas, ocratoxina y zearalenona, las cuales se presentaron conjuntamente en todas las muestras, situación que se encuentra frecuentemente en campo. Los informes de otras investigaciones indican sobre la contaminación conjunta de micotoxinas como fumonisina B<sub>1</sub>/aflatoxina B<sub>1</sub>; ocratoxina A/aflatoxina B<sub>1</sub>; ocratoxina A/citrinina; ocratoxina/DON; aflatoxina B<sub>1</sub>/DON, en granos y alimentos balanceados (FAO/OMS/PNUMA, 1999).

En países como Indonesia, se reporta la co-ocurrencia de aflatoxinas, DON, zearalenona y fumonisinas, los niveles detectados mediante cromatografía de líquidos de alta precisión fueron de 119 ng/g de aflatoxinas; 895 ng/g de fumonisinas; 26 ng/g de DON y 12 ng/g de zearalenona (Ali-N., 1998). En Holanda se detectaron DON y zearalenona niveles de 3,198 y 677 ng/g respectivamente (Tanaka, 1990).

En Corea se encontró DON (4 ppm) y zearalenona (0.6 ppm) en maíz sano y mohoso (Sohn y col., 1999).

La presencia de múltiples toxinas en el mismo alimento proporciona nuevos motivos de preocupación, dado que la información toxicológica sobre los efectos de la exposición simultánea es todavía muy limitada. Sin embargo, en una alimentación diversificada se registrará una exposición a múltiples toxinas en concentraciones bajas con carácter intermitente y durante largos períodos de tiempo. No se conocen aún los efectos finales de esta exposición constante, aunque es difícil prever los efectos de micotoxinas múltiples, ciertos estudios in vitro pueden ayudarnos a predecir los resultados. Por otra parte, existe la combinación de múltiples factores entre los que se incluyen la interacción química o la potenciación/inhibición de diferentes vías metabólicas. Se han observado respuestas diferentes según las proporciones de la combinación, por consiguiente, según el grado de contaminación pueden representar diferentes peligros para la salud (FAO/OMS/PNUMA, 1999).



## IX. CONCLUSIONES

1. Se encontró contaminación por DON, fumonisinas, ocratoxinas, y zearalenona en la totalidad de las muestras y en niveles superiores a los tolerables por humanos.
2. En el maíz analizado no presentó contaminación por aflatoxinas.
3. Los niveles de micotoxinas detectados mediante Cromatografía de Inmunofinidad se pueden considerar de riesgo a la salud: DON en bovinos, cerdos y aves; fumonisinas en equinos y cerdos; ocratoxinas en cerdos y aves; y zearalenona en bovinos y cerdos.
4. La contaminación por micotoxinas fue similar estadísticamente entre las variedades de maíz estudiadas.
5. Villa Corona fue la localidad con mayor contaminación por fumonisinas y con menor de DON y ocratoxinas.
6. La temperatura ambiental durante el ciclo primavera-verano 1997 presentó un comportamiento similar en las cuatro localidades.
7. Acatic presentó mayor fluctuación en la precipitación pluvial durante el ciclo primavera-verano 1997.
8. No se observó relación entre las condiciones ambientales y la ocurrencia de micotoxinas en las cuatro localidades evaluadas.

## X. BIBLIOGRAFÍA

- Ademoyero A.A., and Hamilton P.B. (1989). Influence of degree of acetylation of scirpenol mycotoxins on feed refusal by chickens. *Poult. Sci.*, 68:854-856.
- Agro. (2000). Conversión de cultivos, investigación aplicada. Una revolución agrícola. Año 1, No. 1, Febrero-abril; México.
- Alexopoulos C. J., Mims C.W., and Blackwell M. (1996). *Introductory Mycology*. Fourth Edition. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Allen N.K., Mirocha C.J., Weaver G., Aakhus-Allen S., and bates F. (1981). Effects of dietary zearalenone on finishing broiler chickens and young turkey poults. *Poult. Sci.*, 60:124-131.
- ApSimon J.W. (1994). The biosynthetic diversity of secondary metabolites. En: *Mycotoxin in grain. Compounds other than aflatoxin*. Miller J.D., Trenholm H.L. (eds.) Eagan Press USA, pp.3-18.
- Basappa S. C., and Shantha T. (1996). Methods for detoxification of aflatoxins in foods and feeds a critical appraisal. *J. Food Sci. Technol.*, 33: 95-107.
- Beretta B., Gaiaschi A., Gailli C.L., and Restani P. (2000). Patulin in apple-based foods: occurrence and safety evaluation. *Food Addit. Contam.*, 17:399-406.
- Bergsjø B., Herstad, O. y Nafstad, I. (1993). *Poultry Sci.* 60:166 (Abstract) citado por Gimeno, A. 2003. Fusariomicotoxicosis comparativa entre pollos, gallinas, cerdos, vacas lecheras y conejos. [www.engormix.com](http://www.engormix.com).
- Bezuidenhout S.C., Gelderblom W.C.A., Gorst-Allman C.P., Horak R.M., Marasas W.F.O., Spisteller G., and Vleggaar R. (1988). Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium verticillioides*. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 743-745.
- Blount W.P. (1961) Turkey X disease. Turkeys. *J.Brit. Turkey fed.*, 9(2):52,55-58, 61-71,77.
- Bommeli W. (1999). Enzyme linked immunosorbent assays (ELISA). Stationsstrasse 12, Liebefeld-Berna, Suiza.
- Bondy G.S., Pestka J.J. (2000). Immunomodulation by fungal toxins. *J. Toxicol. Environ. Health B. Crit. Rev.*, 3: 109-143.
- Boutrif E., and Canet C. (1998). Mycotoxins prevention and control FAO programmes. *Revue. Med Vet.*, 149: 681-684.

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

Campbell I.M: (1984). Secondary metabolism and microbial physiology. *Adv. Microbiol. Physiol.*, 25:198-201.

Castegnaro M., and McGregor D. (1998). Carcinogenic risk assessment of mycotoxins. *Revue med. Vet.*, 149:671-678.

Centro de estadística agropecuaria.(2000a) Anuario estadístico de producción y comercialización de maíz. SAGAR

Centro de estadística agropecuaria.(2000b) Situación actual y perspectiva de la producción de maíz en México 1990-1999. SAGAR

Charmley L.B., and Prelusky D.B. (1994). Decontamination of *Fusarium* mycotoxins. En: *Mycotoxins in grain. Compounds other than aflatoxins.* Miller J.D., Trenholm H.L.(eds.). Eagan Press, St. Paul, Minnesota, pp.421-435.

Charmley L.B., Trenholm H.L., Prelusky D.B., and Nicholson, J.W.. (1993). *J.Dairy Sci.* 76(11):3580-3587. Citado por Gimeno, A. 2003. Fusariomicotoxicosis comparativa entre pollos, gallinas, cerdos, vacas lecheras y conejos. [www.engormix.com](http://www.engormix.com).

Charmley L.B., Trenholm H.L., Prelusky D.B., and Rosenberg A. (1995). Economic losses and decontamination. *Nat. Tox.*, 3:199-203.

Colvin B.M., and Harrison L.R.(1992). Fumonisin-induced pulmonary edema and hydrothorax in swine. *Mycopathology*, 117: 79-82.

Colvin, B.M., Cooley A.J. and Beaver R.W. (1993). Fumonisin toxicosis in swine : Clinical and Pathologic findings. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5 :232-241. In: Norred, W.P. and Voss K.A. (1994). Toxicity and role of fumonisins in animal diseases and human esophageal cancer. *J. Food Prot.* 57(6) :522-527.

Coppock R.W., Mostrom M.S., Sparling C.G., Jacobsen B., and Ross J.C. (1990). Apparent zearalenone intoxication in a dairy herd from feeding spoiled acid-treated corn. *Vet. Human. Toxicol.*, 32:246-248.

Council for Agricultural Science and Technology. (1989). Mycotoxins economic and health risks. Report 116 November. United States of America. Pag. 7,21,24 y 25.

Desjardins A.E., Hohn T.M., and McCormick S.P. (1993) Trchothecene biosynthesis in *Fusarium* species: chemistry, genetics and significance. *Microbiol. Rev.*, 57:595-604.

Doko M.B. and Visconti, A. (1993). Fumonisin contamination of corn and corn based foods in Italy. United Kingdom Workshop on Occurrence and significance of mycotoxins. April 21-23 London, G.B.

Elmer W.H., and Fernandino F.J. (1992). Pathogenicity of *Fusarium* species (section *Liseola*) to asparagus. *Mycologia*, 84:253-257.

Espada Y., Ruiz de Gopegui R., Cuadras C., and Cabañes F.J. (1994). Fumonisin mycotoxicosis in broilers: weights and serum chemistry modifications. *Avian Dis.*, 38: 454-460.

FAO/OMS, (1999). Micotoxinas de interés creciente. Tricotecenas. Tercera Conferencia Internacional Mixta. Túnez, Túnez, 3-6 de Marzo de 1999.

FDA, (2002). Fumonisin levels in human foods animal feeds. Guidance for Industry. U.S. Department of Health and Human Services. <http://vm.cfsan.fda.gov/Edms/fumongui.html>

Franceschi S., Bidoli E., Baron A.E., and La Vecchia C. (1990). Maize and risk of cancers of the oral cavity, pharynx, and esophagus in northeastern Italy, *JNCI*. 82: 1407-1411.

Frisvad J.C., and Samson R.A. (1991). Micotoxins produced by species of *Penicillium* and *Aspergillus* occurring in cereals. En: Cereal Grain, micotoxins, fungi and quality in drying and storage. Chelkowski J. (ed.) Developments in food Science. Elsevier, Amsterdam, pp. 441-476

Galtier P. (1998). Biological fate of micotoxins in animals. *Revue Méd. Vét.*, 549-554.

Galvano F., Pietri A., Bertuzzi T., Bognanno M., Chiess L., De Angelis A., and Galvano M. (1997). Activated carbons: in vitro affinity for fumonisin B1 and relation of adsorption ability to physicochemical parameters. *J. Food prot.*, 60: 985-991.

Galvano F., Pietri A., Bertuzzi T., Piva A., Cies L., and Galvano M. (1998). Activated carbons: in vitro affinity for ochratoxin A and deoxynivalenol and relation of adsorption ability to physicochemical parameters. *J. Food prot.*, 61: 469-475.

Galvano F., Piva A., Ritieni A., and Galvano G. (2001). Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: a review. *J Food prot.*, 64: 120-131.

Garza C.I. (1994). Análisis de muestras en el laboratorio para detectar aflatoxinas. CIRNE-INIFAP-SARH. Memoria del 1<sup>er</sup> Curso-taller sobre aflatoxinas en maíz. Río bravo Tamaulipas, México.

Gelderblom W.C.C., Jaskiewicz K., Marasas W.F.O., Thiel P.G., Horak R.M., Vlegaar R., and Kriek N.P.J. (1988). Fumonisin-novel mycotoxins with cancer-

promoting activity lproduced by *Fusarium verticillioides*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54 : 1806-1811.

Gelderblom W.C.A., Kriek N.P. J., Marasas W.F.O., and Thiel P.G. (1991). Toxicity fumonisin B1, in rats. *Carcinogenesis*, 12: 1247-1251.

Gelderblom W.C.A., Marasas W.F.O., Thiel P.G., Vleggaar R., and Cawood M.E., (1992). Fumonisins: isolation, chemical characterization and biological effects. *Mycopathologia*, 117: 11-16.

Gentles A., Smith E.E., Kubena L.F., Duffus E., Johnson P., Thompson J., Harvey R.B., and Edrington T.S. (1999). Toxicological evaluations of cyclopiazonic acid and ochratoxin A in broilers. *Poult sci.*, 78:1380-1384.

Gonzalez, A.V. (1995). El maíz y su conservación edit. Trillas, México. 214-252.

Gourama H. y Bullerman. L.B. (1995). *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*: aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds: areview. *J. Food Prot.* 58: 1395-1404.

Gremmels J.F., Jhan A., and Blom M.J. (1995). Toxicity and metabolism of ochratoxin A. *Nat. Toxins*, 3:214-220.

Hao Y.Y., Brackett R.E., and Nakayama T. (1989): Removal of aflatoxin B1 from peanut milk by *Flavobacterium aurantiacum*. En: Aflatoxin contamination of groundnuts: Proceeding of the international workshop, ICRISAT, Patancheru, India, pp 141-152.

Harrison L.R., Colvin B.M., Greence J.T., Newman L.E., and Cole J.R., (1990). Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of *Fusarium verticillioides*. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2: 217-221.

Haschek, W.M., Kim, H.-Y, Motelin, G.K., Stair, E.L. and Beasley, W.J. (1992). Characterization of fumonisin toxicity in orally and intravenously dosed swine. *Mycopathologia*, 117:83-96.

Hopmans, E. C. y Murphy P.A. (1993). Detection of fumonisins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> and hidrolized fumonisin B<sub>1</sub> in corn containing foods. *J. Agric. Food Chem*, 41:1655-1658.

Hussein H.S., and Brasel L.M.(2001). Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on human and animals. *Toxicology.*, 167: 101-134.

Huwig A., Freimund S., Kappeli O., and Dutler H. (2001). Mycotoxin detoxification of animal feed by different adsorbents. *Toxicol. Lett.* 122: 179-188.

International Agency for Research on Cancer (IARC). (1986). Some halogenated hydrocarbons and pesticide exposure. En: Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Vol 41, pp22. ,World Health Organization. Lyon, France.

International Agency for Research on Cancer. (IARC), (1993a). Ochratoxin A: En: monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human: some naturally occurring substances; food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Vol. 56, IARC pp. 489-521. Lyon, France.

International Agency for Research on Cancer. (IARC), (1993b). Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, vol 56:IARC, Lyon, France.

Jackson L.S., and Bullerman L.B. (1999). Effect of processing on *Fusarium* mycotoxins. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 459: 243-261.

Jaramillo, M. (1999). Interacciones micotoxinas – nutrientes. Hallazgos relevantes, Universidad de Georgia, Estados Unidos Universidad Central de Venezuela. Pág.1-4.

Jardine D.J., and Leslie J.F. (1992). Aggressiveness of *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium moniliforme*) isolates to grain sorghum under green house conditions. *Plant Dis.*, 76: 897-900.

Kale S., and Bennet J.W. (1992). Strain instability in filamentous fungi. En: Handbook of applied mycology. Vol. 5 : Mycotoxins in ecological systems. Bhatnagar D., Lillehoj E.B., and Arora D.K. (eds.) Marcell Dekker, Inc, New York. USA. p. 311-331.

Krogh P. (1992). Role of ochratoxin in disease causation. *Food Chem. Toxicol.*, 30: 213-224.

Kubena L.F., Edrington T.S., Harvey R.B., Buckley S.A., Philips T.D., Rottinghaus G.E., and Casper H.H. (1997). Individual and combined effects of fumonisin B<sub>1</sub> present in *Fusarium moniliforme* culture material and T-2 toxin or deoxynivalenol in broiler chicks. *Poult. Sci.*, 77:1502-1509.

Langseth W., Stenwig H., Sogn L., and Mo E. (1993). Growth of moulds and production of mycotoxins in wheat during drying and storage. *Acta Agric. Scand. Sect. B: Plant Sci.*, 43: 32-37.

Ledeux D.R., Rottinghaus G.E., Bermudez A.J., and Alonso-Debolt M. (1999). Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broiler chicks. *Poult. Sci.* 78: 204-210.

Leslie J.F., Pearson C.A., Nelson P.E., and Tousson T.A. (1990). *Fusarium* species from corn, sorghum and soybean fields in the central and eastern United States. *Phytopathology.* 88: 343-350.

- Leeson S., Summers J.D., y Diaz G.J. (2000). Nutrición aviar comercial. Santa Fe, Bogota, Colombia. pp. 93-95.
- Linsell C.A., and Peers F.G. (1977). Aflatoxins and liver cell cancer. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 71: 471-473.
- Lopez-Garcia R., and Park D.L. (1998). Effectiveness of postharvest procedures in management of mycotoxin hazards. En: *Mycotoxins in agriculture and food safety*. Sinha K.K., Bhatnagar D. (eds.) Marcel Dekker, Inc. pp. 407-433
- Machen M.D., Clement B.A., Shepherd E.C., Sarr A.B., Pettit R.E., and Phillips T.D. (1988). Sorption of aflatoxins from peanut oil by aluminosilicates. *Toxicologist.*, 8:265.
- Marasas W.F.O., Nelson P.E., and Tousson T.A. (1984). Toxigenic *Fusarium* species, identify and mycotoxicology. Pennsylvania State University Press., University park.
- Marasas W.F.O., Jaskiewicz K., Venter F.S., and Van Schalkwyk D.J. (1988). *Fusarium verticillioides* contamination of maize in oesophageal cancer areas in Transkei. *S. Afr. Med. J/S.A. Med.*, 74: 110-114.
- Martins M.L., and Martins H.M. (1999). Natural and in vitro coproduction of cyclopiazonic acid and aflatoxins. *J. Food Prot.*, 3:292-294.
- Miller M.A., Honstead J.P., and Lovell R.A. (1996). Regulatory aspects of fumonisins with respect to animal feeds. Animal derived residues in foods. En: *Fumonisin in foods*. Jackson L.S., De Vries J.W., Bullerman L.B. (eds.), Plenum Press, New York and London, pp.363-368.
- Mirocha, C.J. (1999). Tricotecenos. FAO/OMS/PNUMA sobre micotoxinas.
- Mirocha, C.J., Weaver, G., Whitmore, H. L. , Allen, N., Pathre, S. V., Robison, T. S, Bates, F., and Kutz, H. (1978) "Pharmacological and Toxicological Studies on Zearalenone in food producing animals" in Quaterly Report IV. Contract No. 233-77-7211. FDA.
- Montemayor M. (1994). Agroindustria: Micotoxinas, Agroicultura. 4(26); 11-12.
- Neal G.E. (1998) Participation of animals biotransformation in mycotoxin toxicity. *Revue Méd. Vét.* 149: 555-560.
- Nelson P.E. (1992). Taxonomy and biology of *F. moniliforme*. *Mycopathologia*, 117:29-36.
- Nelson, P.E., Plattner, R.D., Shackelford, D.D. and Desjardins, A.E. (1992). Fumonisin B<sub>1</sub> production by *Fusarium* species other than *Fusarium moniliforme* in section *Liseola* and by some related species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58(3) :984-989.

- Nelson P.E., Desjardins A.E., and Plattner R.D. (1993). Fumonisin, mycotoxins produced by *Fusarium* species: Biology, chemistry and significance. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 31:233-252.
- Norred W.P., and Voss K.A. (1994). Toxicity and role of fumonisins in animal diseases and human esophageal cancer. *J Food Prot.*, 57:52-57.
- Ominski K.H., Marquardt R.R., Sinha R.N., and Abramson D. (1994). Ecological aspects of growth and mycotoxin production by storage fungi. En: *Mycotoxins in grain. Compounds other than aflatoxin*. Miller J.D., Trenholm H.L. (eds.). Eagan Press, St. Paul, Minnesota, USA. pp. 287-312.
- Omurtag G. Z y Boyoglu D. (2003). Occurrence of deoxynivalenol (vomitoxin) in processed cereals and pulses in Turkey *Food Addit. Contam.* 20(4); 405 -409.
- Oswald I.P., and Coméra C.(1998). Immunotoxicity of mycotoxins. *Revue. Med. Vet.*, 149: 585-590.
- Osweiler G.D. (2000). Mycotoxins contemporary issues of food animal health and productivity. *Vet Clin. North. Am. Food Anim. Pract.*, 16:511-530.
- Osweiler G.D., Ross P.F., Wilson T.M., Nelson witte S.T., Carson T.L., Rice L.G., and Nelson H.A. (1992) Chrarakterization of an epizootic of pulmonary edema in swinw associated with fumonisin in corn screenings. *J. Vet. Diagn Invest.*, 4:53-59.
- Overnes G., Matre T., siversten T., larsen H.J., Langseth W., Reitan L.J., jansen J.H. (1997). Effects of diets with graded levels of naturally deoxynivalenol-contaminate oats on immune response in growing pigs. *Zentralbl. Veterinarmed. A.*, 44:539-550.
- Peraica M., Radic B., Lucic A., and Pavlovic M. (1999). Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bull. World Health Organ.*, 77:754-766.
- Peers F.G., Gilman G.A., and Linsell C.A. (1976). Dietary aflatoxins and human liver cancer. A study in Swaziland. *Int. J. Cancer*, 17:167-176.
- Pestka J.J., Abouzied M.N., y Stikno (1995). Immunological assays for mycotoxin detection. *Food Technology*. pp. 120-128.
- Pitt J.I., and Hocking A.D. (1997). Fungi and food spolage. CSIRO Division of Food Science and Technology, Sydney Academic Press. Australia.
- Pitt J.I: (2000). Toxigenic fungi and mycotoxins. *Br. Med. Bull.*, 56:184-192.
- Pittet A. (1998). Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds: an updated review. *Revue. Med. Vet.*, (149) 6: 479-492.



- Piva G., Galvano F., Pietri A., and Piva A. (1995). Detoxification methods of aflatoxins: a review. *Nutr. Res.* 5: 689-715.
- Plattner R.D., Weisleder D., Shackelford D.D., Peterson R., and Powell R.G. (1992). A new fumonisin from solid cultures of *Fusarium verticillioides*. *Mycopathologia.*, 117: 23-28.
- Pont G., Jordana J., Campanera P., y Arroyo R. (1989). El problema de la contaminación fúngica en la industria de los piensos. LUCTA. (2ª Edición) Barcelona, España. Pag. 21-72.
- Postupolski J., Rybinska K., Szczesna M., Karlowski K., and Ledzion E. (1999). The review of the European Union documents relating to contamination of aflatoxins in food. *Rocz. Panstw. Zaki-Hig.*, 50: 57-67.
- Prelusky D.B., Rotter B.A., and Rotter R.G. (1994). Toxicology of micotoxins. En: *Mycotoxins in Grains. Compound other than aflatoxin*. Miller J.D., and Trenholm H.L. (eds.) Egan Press St. Paul, Minnesota, USA. pp. 359-404.
- Quatrocchi O.A., Andrizzi S.A. y Laba R.F. (1992). Introducción a la HPLC aplicación y practica. Merck. Buenos Aires, Argentina pp. 15-33 y 302-323.
- Ramos A.J., and Hernández E. (1997). Prevention of aflatoxicosis in farm animals by means of hydrated sodium calcium aluminosilication addition to feedstuffs. A review. *Anim. Feed Sci Technol.*, 65: 197-206.
- Reyes V.W.P. Nuño R.R., Ramírez A.A. González A.A.V. 2000. Detección de *Fusarium moniliforme* y fumonisinas en tres híbridos de maíz en Ameca, Jalisco. *Scientia CUCBA* 2(1): 27-33.
- Rheeder J.P., Marasa W.F.O., Thiel P.G., Sydenham E.W., Shephard G.S., and Van Schalkwyk D.J. (1992). *Fusarium verticillioides* and fumonisin in corn in relation to human esophageal cancer in Traskei. *Phytopathology.*, 82: 353-357.
- Rhone diagnostics technologies Ltd. (1998). Immunoaffinity columns for mycotoxins analysis. Version P14/V3/27.03.98, Maryhill Road, Glasgow, Scotland.
- Riley R.T., Norred W.P., and Bacon C.W. (1993). Fungal toxins in foods recent concerns. *Anu. Rev. Nutr.*, 13: 167-189.
- Ross P.F., Nelson P.E., Richard J.L., Osweiler G.D., Rice L.G., Plattner R.D., and Wilson T.M. (1990). Production of fumonisins by *F. moniliforme* and *F. proliferatum* isolated associated with equine leukoencephalomalacia and pulmonary edema syndrome in swine. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56 : 3225-3226.
- Ross P.F. (1994). What are we going to do with this dead horse?. *AOAC Internat.* 77: 491-494.

- Rotter B.A., Prelusky D.B., and Pestka J.J. (1996). Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *J. Toxicol. Environ. Health.*, 48:1-34.
- Scott P.M. (1991). Possibilities of reduction or elimination of mycotoxins present in cereal grains. En: *Cereal grain. Mycotoxins, fungi and quality in drying and storage.* Chelkowski J. (ed.), Elsevier, Amsterdam, pp. 529-572.
- Scott P.M. (1994). *Penicillium* and *Aspergillus* toxins. En: *Mycotoxin in grain. Compounds other than aflatoxin.* Miller J.D., and Trenholm H.L. (eds.). Eagan Press USA, pp. 261-286.
- Scott P.M. (1998). Industrial and farm detoxification processes for mycotoxins. *Revue. Med Vet.*, 149: 543-548.
- Scudamore K.A., Hetmanski M.T., Chan H.K., and Collins S. (1997). Occurrence of mycotoxins in raw ingredients used for animal feeding stuffs in the United Kingdom in 1992. *Food Addit. Contam.*, 14:157-173.
- Scudamore K.A., Nawaz S., and Hetmanski M.T. (1998). Mycotoxins in ingredients of animal feeding stuffs: II determination of mycotoxins in maize and maize products. *Food Addit. Contam.*, 15: 30-55.
- Seo J.A., and Lee Y.W. (1999). Natural occurrence of the series of fumonisins in moldy corn. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65: 1331-1334.
- Shier W.T. (1998). Estrogenic mycotoxins. *Revue Med. Vet.*, 149:599-604.
- Smith J.E., and Moss M.O. (1985). *Mycotoxins: Formation, analysis and significance.* New York: John Wiley and Sons. Pp. 1-143.
- Sugiura Y., Fukasaku K., Tanaka T., Matsui Y., and Ueno Y. (1993). *Fusarium poae* and *Fusarium crookwellense*, fungi responsible for the natural occurrence of nivalenol in Hokkaido. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59 : 3334-3338.
- Sun S., Snyder W.C. (1981). The bakane disease of the rice plant. En: *Fusarium diseases, Biology and Taxonomy.* Nelson P.E., Tousson T.A., and Cook R.J. (eds.) Pennsylvania State University Press. University Park, PA. pp. 104-113.
- Sydenham E.W., Thiel P.G., Marasas W.F.O., Shephard G.S., Van Schalkwyk D.J., and 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.
- Sydenham, E.W., Shephard, G.S., Thiel, P.G., Marasas, W. F.O. and Stockenström S. (1991). Fumonisin contamination of commercial corn-based human foodstuffs. *J. Agric. Food Chem.*, 39 :2014-2018.

Trevor, S., E.H., Evans, D.K., Morris, y C.L. Brockus. 1995. Alimentación de reproductoras y pollos de engorde, para obtener un rendimiento óptimo. *Feedstuffs* julio, 3; 16-17.

Ueno Y. Sugiera, A. S. Wang, D-S, Lee, U.S. Hiroka, E.Y. Hara, S., Karki,T., Chen, G. and Yu, S-Z. (1993). A limited suvey of fumonisins in corn and corn based products in Asia countries. *Mycotoxins Research*. 9:27-34.

Van Egmond H. P. (1995). Mycotoxins: regulation, quality assurance and reference materials. *Food Addit. Contam.*, 12: 321-330.

Van Rensburg S.J., Cook-Mozuffari P., Van Der Watt J.J., Vicent T.J., and Purchase I.F. (1985). Hepatocelular carcinoma and dietary aflatoxin in Mozambique and transkei. *Br. J. Cancer.*, 51: 713-726.

Varga J., Kevei E., Rinyu E., Teren J., and Kozakiewicz Z. (1996). Ochratoxin production by *Aspergillus* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62: 4461-4464.

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

Wakulinski W., Solfrizzo M., and Perkouski J. (1991). Susceptibility of selected winter wheat cultivars produced in Poland to *Fusarium moniliforme* head blight. *Mycotoxin Res.* 7: 473-478.

Weaver G.A., Kurtz H.J., Behrens J.C., Robison T.S., Seguin B.E., Bates F.Y., and Mirocha C.J. (1989). Effect of zearalenone on dairy cows. *Am. J. Vet. Res.*, 47:1826-1828.