

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS



MICOFLORA DE CACAHUATE (*Arachis hypogaea* L.)
TOSTADO PARA CONSUMO HUMANO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O

P R E S E N T A :
GUADALUPE VIDAL GAONA

Como un póstumo homenaje a

la memoria de:

MI PADRE

Y

MAMA GRANDE

A MI MADRE Y TIO LUIS,

con infinito cariño y gratitud por
el apoyo y orientación que siempre
me han brindado.

A MI HERMANITA CONCHITA

con todo mi cariño, por la
ayuda que siempre me ha dado.

PARA TI ARTURO, CON AMOR

por el cariño y comprensión
que me has brindado.

A MIS MAESTROS:

Con agradecimiento y muy especialmente a la

Dra. Martha Zenteno Zevada

A MIS AMIGAS ELVIRITA Y CATY

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Martha Zenteno Zevada, por haber dirigido y ayudado en la realización de esta tesis.

Al Dr. Ernesto Moreno Martínez por la gran ayuda que me brindó en el desarrollo de este estudio.

A los Maestros: Dra. Martha Zenteno Zevada, Dr. Ernesto Moreno - Martínez, Dra. Celia Dubovoy Rydoy, Biol. Cora Salinas Chapa, Biol. Mario Ramírez Martínez, Dr. Miguel Ulloa Sosa; por la revisión y corrección del manuscrito.

A. Dr. Teofilo Herrera Suárez.

Jefe del Departamento de Botánica del
Instituto de Biología de la
Universidad Nacional Autónoma de México;
por permitir la realización de este trabajo.

CONTENIDO

	Número
INTRODUCCION	1
MATERIALES Y METODOS	4
RESULTADOS Y DISCUSION	13
DESCRIPCION DE ESPECIES	27
LITERATURA CITADA	36

INTRODUCCION

El cultivo del cacahuate es de gran importancia económica debido a su uso industrial y alimenticio. El fruto del cacahuate está formado por los cotiledones, el tegumento seminal y el embrión, en la siguiente proporción: 72.6% de cotiledones, 4.1% de tegumento seminal y 3.3% del embrión. Los cotiledones constituyen la parte más importante del fruto. Su contenido en proteínas es elevado constituyendo aproximadamente el 26%. Se ha conseguido aislar dos globulinas, la araquina y la concaquina, ésta última particularmente rica en azufre. El contenido en aceite de los cotiledones varía de 45 a 53% en base a peso seco.

No toda la producción de cacahuate tiene como objeto la fabricación de aceite, una buena parte es consumida en forma directa para lo que se seleccionan los cacahuates de mejor calidad y presentación; además, con el fruto se elabora la crema de cacahuate que en algunos países es sumamente apreciada por su sabor y su alto valor alimenticio.

El fruto del cacahuate, al igual que otros productos agrícolas, está sujeto a ser contaminado por hongos durante su formación, cosecha y almacenamiento. De 1961 a la fecha se han llevado a cabo en otros países varios estudios acerca de la micoflora del cacahuate (Hanlin 1966, 1970, 1971, 1972, 1974), (Jackson 1965), (Joffe 1968, 1969). Estos trabajos se han realizado como resultado del interés despertado

por un problema que se presentó en 1960 en granjas del sur y este de Inglaterra, cuando más de 100,000 pavos murieron en el curso de unos cuantos meses a causa de una nueva enfermedad desconocida hasta entonces y por lo tanto llamada enfermedad X del pavo (Blount 1961). Pero esta enfermedad no fue exclusiva de los pavos (Asplin 1961), sino que causó también la muerte de perdices, faisanes y patos. Casi simultáneamente en E.U.A. hubo una mortandad en truchas. Al ser examinado un cargamento de truchas compradas en un criadero, se encontró que tenían hepatomas causados por la ingestión de alimentos contaminados por hongos. Los casos anteriormente mencionados ocasionaron que un gran número de investigadores se dedicaran a buscar la causa de dichas enfermedades.

Por lo que se refiere a la enfermedad X del pavo, se encontró que los pavos habían consumido un alimento elaborado con cacahuete procedente de Brasil (Allcroft 1961). Se hicieron especulaciones acerca del origen de la sustancia tóxica contenida en dicho alimento y después de eliminar otras posibles causas, se sugirió que podría ser de origen fungoso, ya que al examinar los cacahuates utilizados en la elaboración del alimento, se encontró que presentaban arriba del 20% de cotiledones invadidos por micelio. Después de realizar estudios minuciosos encontraron que el hongo productor de la sustancia tóxica era Aspergillus flavus.

Posteriormente, los químicos aislaron e identificaron los metabolitos -

tóxicos producidos por este hongo, a los cuales les llamaron aflatoxi--nas. Estas toxinas son los carcinógenos más potentes hasta ahora con-
cidos (Christensen 1975).

A raíz de estos descubrimientos, en los Estados Unidos de América, hubo una campaña para evitar que productos elaborados con cacahuete llegaran al consumidor conteniendo las toxinas de Aspergillus flavus - (Christensen y Kaufman 1969). Actualmente se puede decir que gracias a la coordinación entre las instituciones de investigación y las depen--dencias oficiales encargadas de vigilar la sanidad de los productos ali-menticios, en ese país, se ha eliminado la amenaza de las aflatoxinas en los productos elaborados con cacahuete.

En México no existe ningún control sanitario en cuanto a las aflatoxinas y frecuentemente nos han rechazado de Estados Unidos y Canadá lotes de cacahuete contaminados con dichas substancias.

En vista de la importancia que en la salud pública y animal tienen es-
tos metabolitos tóxicos producidos por ciertas cepas de Aspergillus -
flavus, se consideró importante el estudio de la micoflora de los caca-
huates que llegan en forma directa al consumidor, y así conocer el -
grado de peligro potencial que representa para la salud humana la in-
gestión de cacahuete enmohecido.

007

MATERIALES Y METODOS

Cacahuete. La mayoría de las muestras de cacahuete (Arachis hypogaeae L.) destinadas al consumo humano en forma directa, utilizadas para este trabajo, fueron adquiridas en diferentes comercios del Distrito Federal, del estado de México y de otras localidades como Guadalajara, Oaxaca y Acapulco.

Hasta el momento de su estudio, las muestras se guardaron bajo condiciones ambientales en el laboratorio. Las relaciones de las muestras de cacahuete utilizadas en este trabajo se muestran en la Tabla 1.

Determinación de la micoflora.

Para determinar el número y la clase de hongos presentes en los frutos de cacahuete, se procedió a sembrar 200 frutos en el medio de cultivo malta-agar. La mitad de ellos, fueron desprovistos de su testa antes de ser sembrados. La siembra se hizo con 10 frutos por caja. (Fig. 1). En la misma forma se sembraron 200 frutos en el medio de cultivo malta-sal-agar (6% de cloruro de sodio), el cual es selectivo para aislar "hongos de almacén" (Christensen 1957). Se les incubó a una temperatura de 27°C durante seis días; al final de dicho período se procedió a contar e identificar la micoflora. Las muestras 16 a 25, también se sembraron en los medios de cultivo papa-dextrosa-agar y jugo de V8-agar.

Tabla 1. Relación de localidades, fechas de colección y de siembra, de las muestras de cacahuete.

Número de muestra	Localidad	Fecha de colecta	Fecha de siembra
Distrito Federal			
1	Aurrerá Taxqueña	8/V/75	25/XI/75
2	Colonia Industrial	8/XII/75	8/XII/75
3	Comercial La Villa	23/XII/75	14/XII/75
4	Gigante La Villa	20/XII/75	28/I/76
5	Centro Comercial La Viga	25/XII/75	15/II/76
6	Glorieta de Etiopía	18/XII/75	25/II/76
7	Colonia Del Valle	22/IV/76	28/IV/76
8	Colonia Narvarte	23/IV/76	12/V/76
9	Colonia Santa Rosa	23/IV/76	14/V/76
10	Colonia Roma	27/IV/76	19/V/76
11	Colonia de los Doctores	27/IV/76	20/V/76
12	Colonia Juárez	28/IV/76	20/V/76
13	Colonia Nápoles	29/IV/76	20/V/76
14	Colonia Narvarte	29/IV/76	21/V/76
15	Mercado de La Merced	30/IV/76	23/V/76
16	Colonia Guerrero	21/IV/76	25/V/76
17	Metro Zaragoza	25/V/76	1/VI/76
18	Colonia A. Oriental	22/IV/76	1/VI/76
19	Tlalpan Sur	22/IV/76	3/VI/76
20	Periférico y Tlalpan	23/IV/76	4/VI/76
21	Villa Coapa	23/IV/76	8/VI/76
Estado de México			
22	Aurrerá Satélite	24/IV/76	9/VI/76
23	Pastores Echegaray	25/IV/76	10/VI/76
24	Lomas Verdes	25/IV/76	15/VI/76
25	Jardines de Santa Clara	28/VII/76	15/VI/76
26	Guadalajara, Jalisco	28/VII/76	2/VIII/76
27	Zaachila, Oaxaca	21/VIII/76	23/VIII/76
28	Cuilapan, Oax.	21/VIII/76	25/VIII/76
29	Centro de Oaxaca	19/VIII/76	30/VIII/76
30	Acapulco, Guerrero	25/VIII/76	30/VIII/76

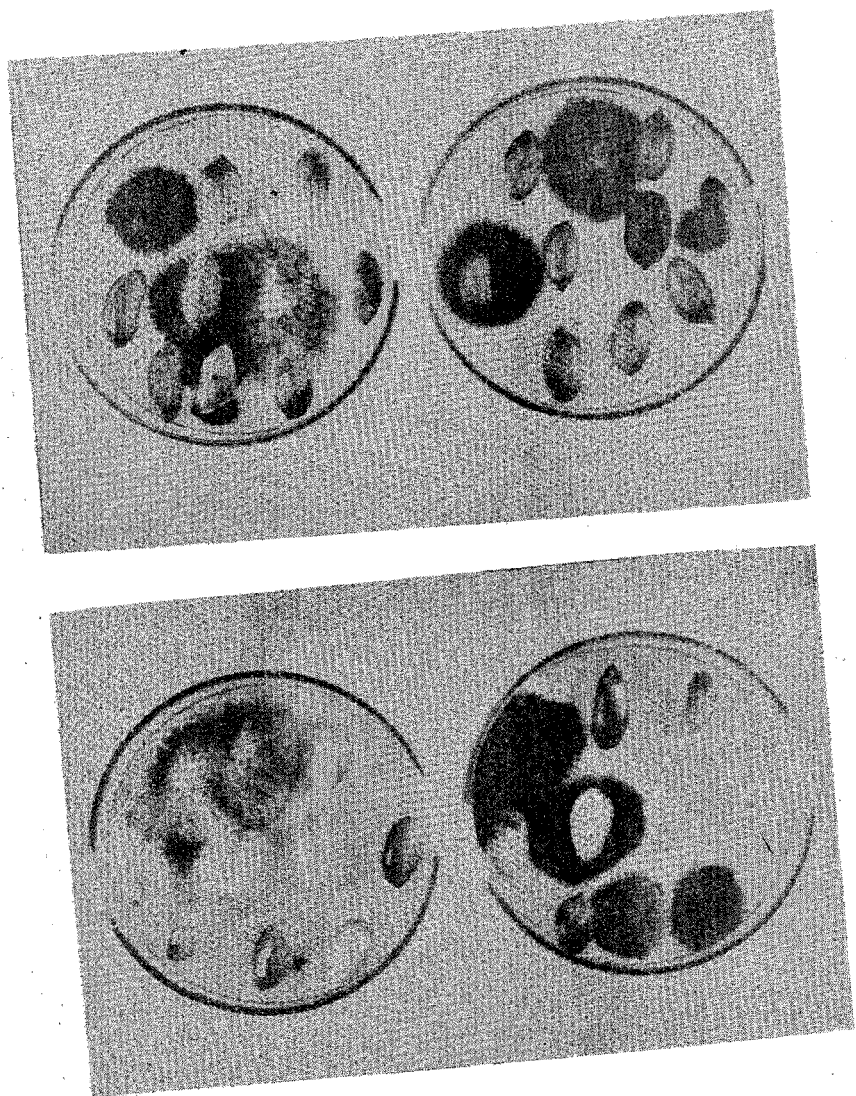


Fig. 1. Micoflora de frutos de cacahuate.

a) Sin testá

b) Con testá

Una vez efectuado el conteo de las colonias se aislaron en tubos de cultivo los diferentes hongos encontrados; los *Aspergilli* fueron identificados hasta especie, de acuerdo a Raper y Fennell (1965), y los demás únicamente hasta género. Las cepas aisladas se conservaron en tubos de cultivo con medio de cultivo Czapek a una temperatura de 5°C hasta el momento de su identificación.

Identificación de especies.

En cajas de petri con medio de cultivo Czapek se sembraron las cepas de *Aspergilli* por identificar. Cuando las colonias alcanzaron un diámetro de 7 cm, se tomaron porciones de la periferia de la colonia con un sacabocados de 7 mm de diámetro y se colocaron en seis cajas de petri con el medio de cultivo antes mencionado; en tres de las cajas se colocaron tres fragmentos equidistantes y en otras tres cajas se colocó un fragmento en el centro de cada una (Fig. 2).

Los hongos se incubaron por dos semanas a una temperatura de 24-26°C. Después del período de incubación, se procedió a recabar los datos necesarios para la identificación de las especies de *Aspergilli*, concentrando dicha información, para cada aislamiento, en una hoja de datos (Tabla 2) de acuerdo con lo especificado por Raper y Fennell (1965). Una vez obtenida dicha información básica de las cepas que se aislaron, se procedió a utilizar las claves de los autores antes mencionados, con lo cual se llegó hasta el nivel de especie. En la identificación de las

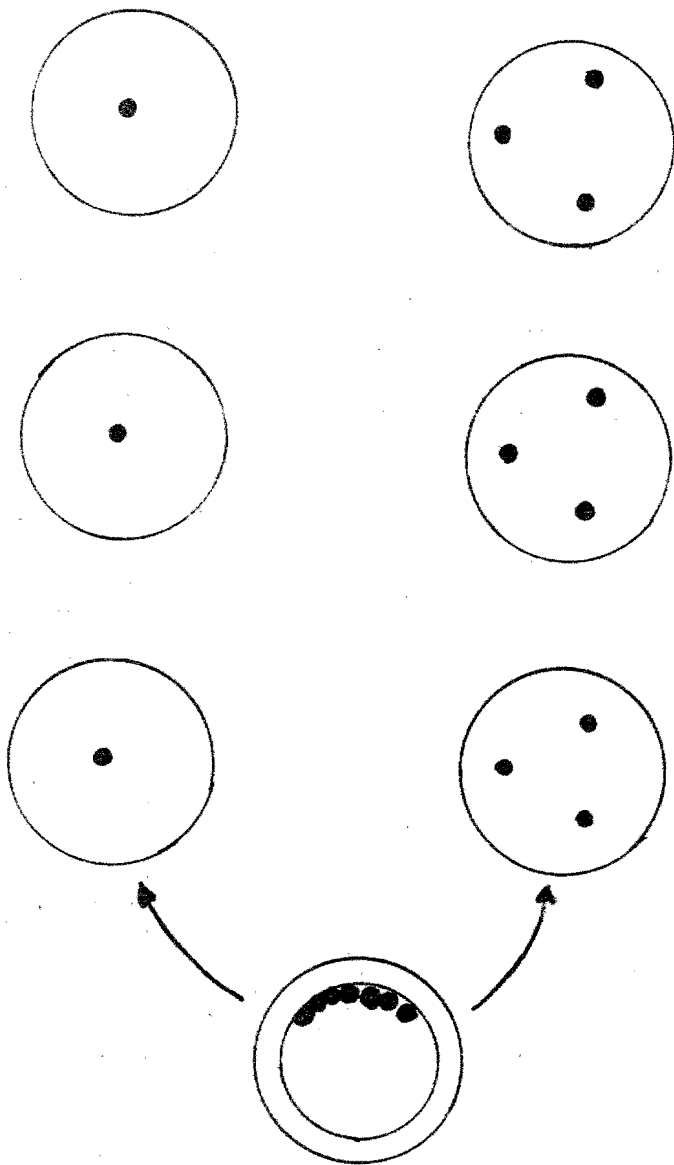


Fig. 2. Identificación de especies.

Tabla 2. Hoja de compilación de datos para la identificación de los Aspergilli. Los datos corresponden a Aspergillus japonicus Saito.

Determinación del aislamiento. Origen: Fruto de cacahuete

Medio: Czapek Temperatura: 24-26°C Edad: 10 días

Características de la colonia:

Vel. de crecimiento: 5.0 a 6.0 cm de diámetro en 2 días

Patrón de crecimiento: Denso

Color y textura: Blanca y rugosa

Micelio basal: Blanco y rugoso

Micelio superficial: Negro-purpúreo

Abundancia relativa y arreglo de cabezuelas y esclerocios, cleistotecios.

Color en el reverso: Incoloro al principio y después púrpura.

Estado conidial

Cabezuela

Conidióforo

Manera en que nacen: radiada o dividida en varias columnas.

Longitud: 500 a 1000 μ

Color: moreno-parduzco

Diámetros: 5 a 10 μ

Forma: radiada o dividida en varias columnas.

Pared: Ligeramente rugosa

Dimensiones: 300 μ en 10 días

Vesícula

Forma: Elongada

Dimensiones: 20 a 30 μ por 25 a 35 μ

Color: moreno-parduzco

Area fértil: toda la vesícula

Esterigma

Desarrollo

Arreglo - uniseriado

- biseriado

Primarios

Dimensiones: 5.5 a 8.0 μ por
3.0 a 4.5 μ .

Color: café parduzco

Conidios

Dimensiones: 0.5-.5 μ

Color: moreno-parduzco

Pared: equinulada

Esclerocios

Forma y estructura: globosos

Dimensiones: arriba de los
500 μ de diámetro.

Color: Blanco, crema.

Secundarios

Dimensiones:

Color:

especies de *Aspergilli* así como de los otros géneros, hubo en algunos casos, la necesidad de hacer microcultivos para lo cual se siguió el siguiente procedimiento.

De una caja de petri con el medio de cultivo apropiado, MSA, MA y PDA, se cortaron cuadritos de 3 x 3 cm, los que se colocaban en otras cajas sobre el medio de cultivo. Estos cuadritos de agar fueron inoculados con el hongo en estudio y cubiertos con un cubreobjetos estéril; la temperatura de incubación fue de 27°C. Se observaron diariamente y cuando presentaban crecimiento se tomaban los cubreobjetos y se colocaban sobre un portaobjetos con una gota de azul algodón para efectuar las observaciones microscópicas pertinentes (Fig. 3).

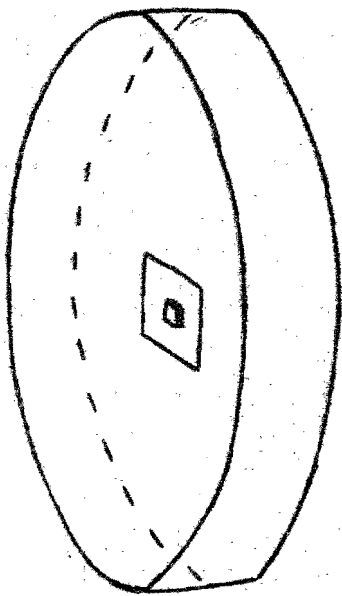


Fig. 3. Técnica para hacer microcultivos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de la micoflora de frutos de cacahuete se encuentran resumidos en las tablas 3, 4, 5, 6 y 7. En la tabla 3 se muestra el porcentaje de frutos de cacahuete sin testa invadidos por hongos. Se encontraron los siguientes hongos en malta sal agar: Aspergillus glaucus, Aspergillus niger, A. flavus, A. tamarii, Penicillium spp. y Alternaria spp. De los hongos mencionados, A. glaucus predominó en todas las muestras. Se encontró una variación de 14% a 70% de frutos invadidos por A. glaucus; el primer valor se encontró en la muestra 27 que es de Zaachila, Oaxaca, y el segundo valor se encontró en las muestras 1, 12, 15 y 26, teniendo como lugares de procedencia la tienda Aurrará Taxqueña, Distrito Federal, colonia Juárez, Distrito Federal, Mercado La Merced, D.F. y Guadalajara, Jal., respectivamente. De lo anteriormente mencionado, se observa que existe una diferencia significativa entre los valores del porcentaje de frutos de cacahuete invadidos por hongos en las diferentes muestras; esta diferencia se puede deber a que estuvieron sometidos a distintas condiciones físico-químicas.

Aspergillus niger se encontró en menor proporción que A. glaucus; en muchas de las muestras estuvo totalmente ausente, como en las muestras 2 y 3 procedentes de la colonia Industrial, D.F. y el Centro Comercial La Villa, D.F., respectivamente.

Tabla 3. Micoflora de frutos de cacahuete sin testa sembrados en Malta Sal Agar.

Número muestra	% de granos invadidos por hongos					
	<u>A. glaucus</u>	<u>A. niger</u>	<u>A. tamaritii</u>	<u>A. flavus</u>	<u>Penicillium spp</u>	<u>Alternaria spp</u>
1	70	6	0	0	0	0
2	28	0	0	0	0	0
3	36	0	0	0	0	0
4	38	0	0	0	0	0
5	42	0	0	0	0	0
6	68	2	0	0	0	0
7	52	8	2	0	0	0
8	40	0	0	0	6	0
9	50	10	0	0	0	0
10	40	6	0	0	4	0
11	46	6	0	0	4	0
12	70	6	4	0	4	0
13	68	4	2	0	2	0
14	62	6	0	0	4	0
15	70	0	2	0	2	0
16	18	5	2	0	2	0
17	16	6	2	0	0	0
18	37	6	2	0	2	0
19	32	4	0	2	2	0
20	42	2	2	0	0	0
21	40	2	2	0	2	0
22	34	0	0	0	0	0
23	42	2	0	0	2	2
24	30	0	2	0	0	0
25	32	2	0	0	0	0
26	70	4	0	0	2	0
27	14	14	0	0	6	0
28	18	4	0	0	0	0
29	28	10	0	0	0	0
30	30	4	0	0	0	0

BIBLIOTECA
CENTRO DE ECOLOGIA

La muestra 27, procedente de Zaachila, Oax., presentó 14% de frutos invadidos por A. niger (el porcentaje más alto encontrado), pero el menor porcentaje de frutos invadidos por A. glaucus.

Aspergillus tamaris estuvo totalmente ausente en varias muestras, como en las muestras 1-6, y el porcentaje más alto de frutos invadidos por este hongo fue de 4% en la muestra número 12, pero en general, se puede decir que el porcentaje de frutos invadidos por dicha especie es mínimo, debido seguramente a que las condiciones de humedad no eran tan adecuadas para su crecimiento.

Aspergillus flavus se presentó únicamente en el 2% de los frutos, en una de las muestras, que fue la número 19, procedente de Tlalpan, D.F. El resto de las muestras no tuvieron A. flavus, lo que puede ser debido a que las humedades necesarias para su crecimiento son más altas de las que presentaban los frutos en el momento de hacer los aislamientos de la micoflora. Penicillium spp. se encontró en menos de la mitad de las muestras, siendo el 6% el valor más alto de invasión por dicho hongo en la muestra número 8, obtenida de la colonia Narvarte, D.F. y en la 27 obtenida de Zaachila, Oax.

El rango de variación para este género es pequeño y el número de muestras invadidas por él es muy reducido también.

Las especies de Alternaria pertenecen a los llamados "hongos de campo", y en pocas ocasiones se encuentra en productos elaborados. Una probable causa para explicar la presencia del género Alternaria puede ser que las esporas adquiridas en el campo escaparon al calor durante el tostado y al encontrarse en condiciones apropiadas germinaron Alternaria spp. Se encontraron solamente en 2% de los frutos de una de las muestras. Estos hongos también pudieron estar presentes como contaminantes. En la tabla 4 están representados los resultados de la micoflora de frutos de cacahuete con testa sembrados en malta-sal-agar. En este caso los hongos encontrados fueron Aspergillus glaucus.

A. niger, A. tamaritii, A. flavus y Penicillium spp.

Aspergillus glaucus fue el hongo que se encontró en todas las muestras, en mayor proporción, teniendo una variación muy grande, desde 2 a 74%. El primer valor se obtuvo en las muestras 22 y 23, procedentes ambas del Estado de México, y el segundo valor corresponde a las muestras 1 y 12, procedentes del Distrito Federal.

Aspergillus niger estuvo presente en la mayoría de las muestras, excepto en las muestras 2, 3 y 5, procedentes del Distrito Federal, y 22 y 24, del estado de México. El mayor porcentaje del hongo fue encontrado en la muestra número 27, procedente de Zaachila, Oax. que tuvo un 16% de frutos invadidos .

Tabla 4. Micoflora de frutos de cacahuate con testa sembrados en Malta Sal Agar.

Número muestra	% de granos invadidos por hongos				
	<u>A. glaucus</u>	<u>A. niger</u>	<u>A. tamaritii</u>	<u>A. flavus</u>	<u>Penicillium spp</u>
1	74	4	0	0	0
2	28	0	0	0	0
3	18	0	0	0	0
4	28	2	0	0	0
5	32	0	0	0	4
6	56	4	0	0	0
7	70	6	0	0	0
8	54	4	0	0	0
9	68	6	0	0	0
10	54	4	0	0	4
11	50	2	0	0	2
12	74	14	4	0	2
13	70	8	2	0	0
14	60	8	0	0	6
15	50	8	2	0	0
16	30	12	0	2	0
17	28	10	2	0	0
18	7	2	0	0	3
19	7	3	0	0	4
20	54	4	0	0	4
21	50	2	0	0	0
22	2	0	2	0	2
23	2	2	0	0	2
24	8	0	2	0	0
25	25	4	2	0	2
26	30	8	0	0	0
27	16	16	14	0	0
28	8	2	0	0	0
29	8	2	0	2	0
30	8	1	0	0	0

Aspergillus tamaritii. Se encontró solamente en 8 de las 30 muestras. El porcentaje más alto correspondió a la muestra 27, originaria de Zaachila, Oax., con un 14% de frutos invadidos por dicho hongo.

Aspergillus flavus. Solamente se encontró en un 2% de las muestras 16 y 29 procedentes del Distrito Federal y de Oaxaca, respectivamente.

Penicillium spp. Se encontraron solo en las muestras 5, 10, 11, 12, 14, 18, 19 y 20, procedentes del Distrito Federal, lo mismo que en las muestras 22, 23 y 25 del estado de México, siendo el menor porcentaje el de 2% y el de mayor porcentaje el de 6%.

En la tabla 5 se presentan los resultados de la micoflora aislada de frutos de cacahuete sin testa sembrados en malta-agar. Por lo que se refiere a A. glaucus, se observa una variación de 1%, en las muestras 8 y 11 procedentes del Distrito Federal, hasta 52%, en la número 15, también del Distrito Federal.

Aspergillus niger. Estuvo ausente en 8 de las muestras que son las 5, 16, 18, 19 y 21, procedentes del Distrito Federal, y las 23 y 24 del estado de México, y la 26 de Guadalajara, Jal. En el resto de las muestras se presentó mostrando una variación de un 2%, por ejemplo en las muestras 3 y 10 del Distrito Federal, hasta un 18% en la 6, también del Distrito Federal.

Tabla 5. Micoflora de frutos de cacahuete sin testa sembrados en Malta Agar.

Número muestra	% de granos invadidos por hongos					
	<i>A. glaucus</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. tamaritii</i>	<i>A. flavus</i>	<i>Penicillium</i> spp	<i>Alternaria</i> spp
1	30	6	0	0	0	0
2	36	6	2	0	0	0
3	16	2	0	2	0	0
4	12	6	0	0	0	0
5	4	0	0	0	22	2
6	24	18	0	2	0	4
7	14	4	0	2	2	0
8	1	4	0	0	0	0
9	16	6	0	0	4	2
10	10	2	0	0	0	0
11	1	4	0	0	6	2
12	36	4	0	0	6	0
13	24	2	0	0	3	0
14	12	4	0	0	0	2
15	52	4	0	0	0	0
16	6	0	0	0	0	0
17	4	2	2	0	0	0
18	6	0	0	0	2	0
19	2	0	0	2	2	0
20	2	2	0	2	6	2
21	2	0	0	0	2	2
22	12	2	0	0	0	2
23	30	0	0	0	2	2
24	12	0	4	0	0	2
25	10	2	0	0	0	0
26	10	0	0	0	0	0
27	4	10	0	0	10	0
28	11	6	0	2	0	0
29	12	8	0	0	0	0
30	10	12	0	0	2	0

Aspergillus tamaritii. Se obtuvo únicamente en 2% de los frutos de las muestras 2 y 17, procedentes del Distrito Federal, y en 4% de los frutos de la muestra 24, del Estado de México.

Aspergillus flavus. Se presentó con mayor incidencia en frutos de cacahuate sin testa, ya que tuvo un 2% de invasión en las muestras 3, 6, 7, 19 y 20, procedentes del Distrito Federal y en la muestra número 28 de Cuilapan, Oaxaca.

Penicillium spp. Se encontraron con el porcentaje más alto de 22% en la muestra 5, procedente del Distrito Federal, y de 2% en las muestras 7, 18, 19 y 21, del Distrito Federal, la 23 del estado de México y la 30 procedente de Acapulco, Guerrero.

Alternaria spp. Se encontraron en 10 muestras, en un 2% en las muestras 5, 9, 11, 14, 20 y 21, procedentes del Distrito Federal, y en las muestras 22, 23 y 24 del estado de México, y en un 4% en la muestra 6, del Distrito Federal.

En la tabla 6 se muestra la micoflora de frutos de cacahuate con testa sembrados en malta-agar. Se observa que los hongos que aparecieron son A. glaucus, A. niger, A. flavus, Penicillium spp. y Alternaria spp. de los cuales A. glaucus se presentó en un rango de variación de 4% en las muestras 23 y 24, procedentes del estado de México

Tabla 6. Micoflora de frutos de cacahuete con testa sembrados en Malta Agar.

Número muestra	% de granos invadidos por hongos				
	<u>A. glaucus</u>	<u>A. niger</u>	<u>A. flavus</u>	<u>Penicillium spp</u>	<u>Alternaria spp</u>
1	44	44	0	0	4
2	52	6	0	0	4
3	28	2	0	4	0
4	20	8	0	0	0
5	20	0	0	4	0
6	32	20	0	0	0
7	60	12	0	1	0
8	36	1	0	8	0
9	64	12	0	4	0
10	18	8	0	4	0
11	16	6	0	4	0
12	44	8	0	4	0
13	40	10	0	3	0
14	64	8	4	10	0
15	58	6	0	0	0
16	10	8	0	12	0
17	6	6	4	4	0
18	8	4	4	4	0
19	5	4	4	4	0
20	18	4	0	0	0
21	16	1	0	0	4
22	8	4	0	0	0
23	4	0	0	4	0
24	4	0	0	0	0
25	10	4	0	1	0
26	18	4	0	0	0
27	4	8	0	6	0
28	4	8	0	0	0
29	6	0	0	0	0
30	6	0	0	0	0

y en las muestras 27 y 28, procedentes de Oaxaca, hasta 64% en la 9 del Distrito Federal.

A. niger, se encontró en todas las muestras, excepto en la 5, del Distrito Federal, la 23 y 24, del estado de México, la 29, de Oaxaca, y la 30, de Guerrero. El rango de variación en que se presentó dicho hongo va de 1% en las muestras 8 y 21, procedentes del Distrito Federal, hasta 44% en la muestra 1, del Distrito Federal también.

Aspergillus flavus. Se presentó en 4% de los frutos de las muestras 14, 17, 18 y 19 procedentes del Distrito Federal.

Penicillium spp. Se presentaron con un rango de variación de 1% en las muestras 7, del Distrito Federal y 25 del estado de México, hasta 12% en la muestra 16 del Distrito Federal. En las muestras 1, 2, 4, 6, 15, 20 y 21 estuvo totalmente ausente.

Alternaria spp. Se encontraron en 4% de los frutos sólo en tres muestras, 1, 2 y 21 procedentes del Distrito Federal.

Comparando entre sí las 30 muestras y analizando en cual de ellas se obtiene una mayor o menor variedad de hongos, se encontró que en las muestras 12, 13, 18, 19, 20 y 21, procedentes del Distrito Federal, hay mayor variedad de especies de hongos por otro lado, en las

muestras 4, también del Distrito Federal, hubo la menor variedad de hongos, o sea que, aparentemente, de una misma localidad existe una micoflora muy variada; sin embargo, hay que tomar en cuenta que por la extensión del Distrito Federal, es probable que la micoflora cambie de acuerdo con la zona, o posiblemente con el lugar de origen, manipulación y almacenamiento del cacahuate. Por lo tanto, sería conveniente hacer un estudio más detallado del material que se consume en el Distrito Federal, tratando de encontrar su procedencia, manipulación y almacenamiento.

Lo mismo se podría hacer tomando en cuenta los diferentes estados de la República Mexicana.

Los resultados promedios para la micoflora encontrada en los frutos de cacahuate se muestran en la tabla 7 donde se observa que en los dos medios de cultivo, tanto malta-agar como malta-sal-agar, la cantidad de granos invadidos por hongos es mayor cuando a éstos no se les quitó la testa, por lo que se puede decir que la testa por estar inmediatamente después de la vaina, está más expuesta a la contaminación por hongos, lo cual sucede durante el transporte y el almacenamiento; además, la textura de la testa, dado que presenta poros y rugosidades, favorece el que las esporas se adhieran fácilmente a ella, mientras que el fruto sin testa presenta una textura más lisa, que puede dificultar que las esporas de los hongos se queden en ellos.

Tabla 7. Promedios de los porcentajes de frutos de cacahuete invadidos por hongos.

	<u>Aspergillus</u> <u>glaucus</u>	<u>Aspergillus</u> <u>niger</u>	<u>Aspergillus</u> <u>tamaritii</u>	<u>Aspergillus</u> <u>flavus</u>	<u>Penicillium</u> spp	<u>Alternaria</u> spp
Malta Sal Agar sin testa	42.10	3.7	0.73	0.06	1.46	0.06
Malta Sal Agar con testa	48.96	4.6	1.0	0.13	1.16	0.0
Malta Agar sin testa	14.03	3.86	0.22	0.40	2.3	0.73
Malta Agar con testa	24.10	6.86	0.0	0.53	2.7	0.40

Hanlin (1966, 1969, 1974) y Joffe (1968) han reportado mayor cantidad de especies de hongos del cacahuete a las registradas en el presente trabajo, y seguramente la causa principal es que esos investigadores han hecho aislamientos de micoflora no sólo del fruto, sino que también de hojas, raíz y tallo de la planta; además, los frutos en los que han encontrado una gran variedad de hongos son frutos crudos, es decir, todavía presentan micoflora de campo, a diferencia de que en este trabajo se utilizaron frutos de cacahuete para consumo humano, por lo que se piensa que en el proceso de elaboración, posiblemente al momento de tostarlo, muchas de las esporas que se encontraban en el fruto murieron y que al ir pasando el tiempo la micoflora que se va estableciendo es la adquirida por la manipulación y las diferentes condiciones de almacenamiento, observándose que A. glaucus, A. niger y Penicillium spp., son los hongos encontrados en mayor cantidad en todas las muestras.

Aunque no se tomaron datos del contenido de humedad de ninguna de las muestras empleadas en este trabajo, se puede suponer que las humedades relativas a que estuvieron expuestas fueron menores del 75% puesto que el hongo que se encontró en todas las muestras fue A. glaucus, y los contenidos de humedad que requiere para su crecimiento son relativamente bajos, a diferencia de A. flavus que requiere contenidos de humedad bastante altos con humedades relativas de 85% o mayores (Christensen y Kaufmann, 1969) especie que se encontró en pocas de las

muestras y en cantidades muy pequeñas, esto indica que los frutos de cacahuete no tenían un alto contenido de humedad.

La ausencia de A. flavus en la micoflora de los frutos de cacahuete - no excluye la posibilidad de que existan metabolitos tóxicos, por lo que sería necesario hacer un análisis de aflatoxinas en las muestras para determinar su ausencia o presencia. El medio de cultivo malta-sal-agar resultó más favorable para que se manifestara la micoflora presente en los frutos de cacahuete; ésto se debe a que el medio mencionado por ser muy hipertónico es adecuado para "hongos de almacén" y la micoflora predominante en los frutos de cacahuete aquí estudiados pertenecen a dicho grupo de hongos.

Algunas de las muestras, además de sembrarse en malta-sal-agar y - malta-agar, también se sembraron en papa-dextrosa-agar y jugo de - V8-agar, con el objeto de encontrar una mayor variedad de hongos, no observándose en los resultados ninguna variación en cuanto a la micoflora encontrada, por lo que se decidió seguir usando solamente los - medios malta-sal-agar, y malta-agar.

Descripciones de las especies de Aspergilli aisladas de los frutos de
Cacahuate.

Aspergillus amstelodami (Mangin) Thom y Church.

Las colonias en Czapek agar miden de 2.5 a 3.0 cm de diámetro en dos o tres semanas a una temperatura de 25-26°C, son planas y con arrugas muy cercanas, de color amarillo o amarillo grisáceo pálido; cleistotecios mezclados con hifas estériles; presentan cabezas conidiales; el reverso de la colonia es incoloro o amarillento, obscuriéndose se con el tiempo.

Las colonias en Czapek agar con 20% de sacarosa, bajo las mismas condiciones, crecen de 8 a 10 cm de diámetro; las colonias son más o menos arrugadas y zonadas; los cleistotecios son muy abundantes y se agrupan en masas, formando una capa densa en la superficie del agar de color amarillo brillante lo que le da una apariencia característica a la colonia; las cabezuelas conidiales son de color verde olivo, abundantes en el centro de la colonia y esparcidas en forma irregular en la orilla de la colonia; en el reverso existe un amarillo persistente bajo las áreas cleistoteciales, y más o menos de color verde en las áreas predominantemente conidiales; carecen de olor.

Cabezuelas conidiales radiales o columnares de 120 a 150 μ de diámetro, ocasionalmente más grandes; conidioforos de color

amarillo verdoso pálido, 275 a 350 μ de largo, de 10 a 12 μ en diámetro debajo de la vesícula; vesículas subglobosas de 18 a 25 μ en diámetro; esterigmas aproximadamente de 5.0 a 6.5 μ por 2.5 a 3.5 μ ; conidios finamente espinosos, subglobosos a elípticos con terminaciones comúnmente aplanadas de tamaño variable, con un rango de 3.5 a 5.2 μ en el eje apical; más comúnmente de 4.5 a 5.0 μ por 3.5 a 4.0 μ . Cleistotecios globosos y subglobosos de 115 a 140 μ de diámetro, ocasionalmente hasta 150 μ , las ascosporas son lenticulares, miden de 4.7 a 5.0 μ por 3.6 a 3.8 μ , con una prominencia ecuatorial en forma de V, con paredes rugosas.

Aspergillus echinulatus (Delacr.) Thom y Church.

Colonias en Czapek agar de 1.5 a 3.0 cm en diámetro después de 4 semanas a 24-26°C, área marginal de color azul verde en las cabezuelas conidiales y la porción central moreno-rojizo de un sobrecrecimiento de hifas estériles. Carece de cleistotecios en este medio.

Las colonias en Czapek agar con 20% de sacarosa crecen bien planas o algo sinuosas, se esparcen irregularmente de 7 a 8 cm en 3 ó 4 semanas a una temperatura de 24-26°C; comúnmente moteada en apariencia debido al crecimiento del hongo y la distribución no uniforme de las cabezuelas conidiales de color verde y sobre la capa cleistotecial color rojo-naranja. Los cleistotecios son abundantes y nacen en una superficie discontinua; conidióforos de 700 a 850 μ de largo, ocasio

nalmente hasta de 1 μ ; la base de la vesícula mide de 15 a 20 μ , la vesícula de 25 a 35 μ de diámetro, y una sola serie de esterigmas. Cleistotecios abundantes, globosos y subglobosos, miden de 125 a 150 μ de diámetro y ocasionalmente 175 μ , ascosporas lenticulares de 8 a 10 μ o de 6.0 a 7.5 μ ocasionalmente hasta 11 μ en el eje axial, conspicuamente rugosas en el área ecuatorial, con bordes prominentes e irregulares.

Aspergillus japonicus. Saito.

Las colonias en medio de cultivo Czapek crecen rápidamente a una temperatura de 24-26°C, alcanzan de 5.0 a 6.0 cm de diámetro en 10 días. La parte basal de la colonia consiste de un denso micelio blanco y rugoso, el cual tardíamente da origen a una capa densa de estructuras conidiales en color moreno-purpúreo o púrpura negruzco. Ocasionalmente algunas de las cepas producen esclerocios de color blanco o cremoso, en las áreas centrales de la colonia; el reverso de la colonia primero es incoloro, pero después cambia a color grisáceo púrpura, y ocasionalmente, presenta una capa de un tono verde-amarillo; carece de exudado, algunas veces tiene olor bastante desagradable, pero no distintivo. Las cabezuelas conidiales son variables, pequeñas y radiadas o divididas en varias columnas no bien separadas; raramente exceden de 300 μ de diámetro en 10 días, pero a medida que pasa el tiempo, algunas veces se hacen distintivamente columnares y miden más de 600 a 700 μ de largo o se dividen en dos columnas divergen

tes de similar longitud. Los conidióforos son lisos o con una pared granulosa, incoloros o ligeramente pigmentados, particularmente justo abajo de la vesícula que es sinuosa, y que mide de 500 a 1000 μ por 5 a 10 μ , pero hay una gran variación en estas dimensiones; las vesículas son un poco coloreadas en amarillo parduzco, frecuentemente algunas son elongadas, pero en cultivos viejos las cabezuelas son más globosas y miden entre 20 y 30 μ por 25 a 35 μ , aunque los rangos son de menos de 15 μ a 45 μ de diámetro; en cabezuelas fértiles normales, aparece solamente una fila de esterigmas, que miden de 5.5 a 8.0 μ por 3.0 a 4.5 μ , raramente aumentan al doble de su talla normal. Los conidios son globosos, ocasionalmente subglobosos, ligeramente equinulados, con espinas discretas y regularmente esparcidas, los conidios miden comúnmente 0.5 μ de largo, ocasionalmente más; las esporas miden de 3.0 a 3.5 μ . La colonia produce abundantes esclerocios, pero tardíamente en algunas cepas; los esclerocios blanco son de color crema y miden más de 500 μ de diámetro.

Las colonias en extracto de malta agar crecen rápidamente, 7 a 8 cm de diámetro en 10 días a una temperatura de 24 a 26°C; esporulan más rápido y abundantemente que en Czapek; las cabezuelas conidiales son más largas que en Czapek y se dividen en masas columnares conspicuas, comúnmente alcanzan diámetros de 500 μ en 10 días y muestran una estrecha variación en las medidas del conidióforo y la vesícula.

Aspergillus tamarii. Kita.

Las colonias en Czapek agar crecen rápidamente a una temperatura de 24-26°C, alcanzando un diámetro de 5 a 6 cm en 10 días o dos semanas; presentan hifas sumergidas. Tiene una esporulación rápida, a través del tiempo pasa de un color verde amarillento pálido a un color moreno cuando el cultivo es viejo; el reverso es incoloro o rosado ocasionalmente, tiene exudado limitado o carece de él, excepto cuando está asociado con esclerocios; olor no distintivo.

Las cabezuelas conidiales varían grandemente, con tallas de 500 a 600 μ de diámetro; de forma globosa o radiada, con cadenas de esporas divergentes o adheridas en columnas delgadas cerradas; los conidióforos son originados de hifas sumergidas, generalmente miden de 1 a 2 μ de largo, o bien ocasionalmente alargados en áreas marginales, los conidióforos no presentan color, tienen paredes abruptas y delgadas en la base de la vesícula, generalmente rugosas a todo lo largo, a veces el conidióforo aparece liso cuando se examina en medio líquido, pero es conspicuamente rugoso cuando es examinado en seco. La vesícula es de forma globosa a subglobosa, mide de 25 a 50 μ de diámetro, con paredes delgadas frecuentemente colapsadas; esterigmas en una o dos series, variando con la cepa y el medio y algunas veces mostrando 1 o 2 series de esterigmas en la misma cabezuela, pero generalmente con cabezuelas pequeñas uniseriadas y cabezuelas grandes biseriadas; comúnmente los esterigmas primarios miden de 10 a 15 μ -

por 4 a 8 μ , ocasionalmente más largos; los esterigmas secundarios miden de 7 a 10 μ por 4 a 6 μ ; los conidios varían de forma, cilíndricos, piriformes, globosos o subglobosos, cuando jóvenes conspicuamente rugosos en las prominencias.

Los esclerocios son producidos por algunas cepas, particularmente cuando son aislados de suelo o de materiales en descomposición, son de color pardo o más comúnmente color púrpura o bien varían de rojo púrpura a negro; presentan forma globosa o piriforme con un apéndice frecuentemente blanco, miden más de 1.0 a 1.2 μ por 1.5 a 2.0 μ . Las colonias en extracto de malta agar a temperatura de 24 a 26°C, alcanzan un diámetro de 6.0 a 7.0 cm en 10 días. En algunas cepas desaparece la textura compacta que se presenta en medio de Czapek; en medio de malta-agar producen abundantes cabezuelas conidiales de color amarillo verdoso pálido que cambian a un color muy cercano al olivo; cuando jóvenes son de color bronce medio, cambiando de color al madurar, pero nunca a color moreno; en medio de Czapek, el reverso de la colonia es incoloro o con sombra gris; carece de exudado; olor ligeramente fétido. Las estructuras conidiales son como se describen en medio de Czapek agar, pero muestran un aumento en el número de cabezuelas uniseriadas; los conidióforos son largos y las cabezuelas largas también pudiendo alcanzar hasta 1 mm de diámetro.

Aspergillus flavus. Link

Las colonias en medio de Czapek son variables en tamaño, algunas cepas alcanzan de 6 a 6 cm de diámetro y otras crecen lentamente, de 3 a 4 cm en 10 días y a una temperatura de 24-26°C; las colonias son comúnmente planas pero ocasionalmente rugosas en forma cerebriforme, generalmente presentan un micelio basal con zonas de crecimiento abundante; este micelio en algunas cepas se origina sumergido en el medio de 1.0 a 1.5 cm. En muchas cepas se producen abundantes estructuras conidiales directamente sobre sustrato. Las cabezuelas conidiales jóvenes tienen generalmente una sombra de color amarillo muy cercano al amarillo de estroncio o al amarillo de citrina; el color varía en un rango muy amplio dependiendo de la edad; el reverso de la colonia es generalmente incoloro o ligeramente rosado, en cepas con esclerocios se ve un color rojo moreno oscuro; hay un exudado incospicuo excepto en las cepas con bastantes esclerocios; carece de olor o cuando está presente, es un olor desagradable. Se producen esclerocios en muchas cepas particularmente en aislamientos recientes, algunas veces son dominantes en la apariencia de la colonia, variables en forma, dimensiones y pigmentación, originados como un ramillete micelial blanco, característicamente globosos o subglobosos y gradualmente cambian de color blanco a rojo-moreno oscuro o un color muy cercano al negro; miden comúnmente entre 400 y 700 y raramente exceden de 1 mm de diámetro, pero uniformemente más pequeños en varias cepas, menos pigmentados los de algunas

cepas y verticalmente elongados o de crecimiento apical indefinido en otras. Cabezuelas conidiales típicamente radiadas, divididas en varias columnas delgadas, raramente exceden de 500 a 600 μ de diámetro, más comúnmente entre 300 y 400 μ , las cabezuelas más pequeñas son ocasionalmente columnares, rara vez sobrepasan los 300 μ por 50 μ ; conidióforos con paredes gruesas, incoloros, rugosos, generalmente miden menos de 1 mm de largo, pero en algunas cepas miden de 2.0 a 2.5 mm, con un pedúnculo inmediatamente abajo de la vesícula que mide de 10 a 20 μ ; vesículas varían de forma, son elongadas cuando jóvenes, después subglobosas o globosas; miden de 10 a 65 de diámetro pero más comúnmente de 25 a 45 μ . Los esterigmas en vesículas normales, pueden ser uniseriadas o biseriadas, los dos tipos en la misma cabezuela son excepcionales, la primera serie de esterigmas generalmente mide de 6.0 a 10.0 μ por 4.0 a 5.5 μ pero algunas veces llegan a 15 o 16 μ de largo y con menor frecuencia de 8.0 a 9.0 μ de diámetro, la segunda fila de esterigmas mide de 6.0 a 10.0 μ por 3.0 a 5.0 μ ; las que tienen una serie de esterigmas varían en tamaño de 6.5 a 14.0 μ por 3.0 a 5.5 μ ; los conidios son típicamente globosos o subglobosos, conspicuamente equinulados, varían de forma, algunas veces son elípticos, miden de 3.0 a 6.0 μ de diámetro, pero son más comunes de 3.5 a 4.5 μ . Las colonias en extracto de malta-agar crecen rápidamente, alcanzando un diámetro de 6 a 7 cm en 10 días, crecen planas, con micelio basal fino y sumergido; en cepas en las que dominan los esclerocios, éstos se concen

tran en una zona quedando las cabezuelas conidiales confinadas a las - áreas marginales o submarginales; el color de la colonia es verde amarillento cuando es joven y verde jade cuando avanza el tiempo, el re-- verso es incoloro o grisáceo, olor no pronunciado. La morfología es - igual que en Czapek, sólo que los conidióforos muestran menos variabilidad en longitud.

LITERATURA CITADA

- Allcroft, R., R.B.A. Carnaghan, 1961. A toxic factor in Brazillian groundnut meal. Vet. Rec. 73: 428-429.
- Asplin, F.D. and R.B.A. Carnaghan, 1961. The toxicity of certain groundnut meals for poultry with special reference to their effect on dicklings and chickens. Vet. Record. 73: 1215-1219.
- Blount, W.P., 1961. Turkey "X" disease. Turkeys Jour. Brit Turkey Federation. 9 (2) : 52, 55-58, 61, 77.
- Christensen, C.M., 1957. Deterioration of stored grains by fungi. Bot. Rev. 23: 108-134.
- Christensen, C.M., 1975. Molds mushrooms and mycotoxins. University of Minnesota Press. U.S.A. 264 pp.
- Christensen, C.M. and H.H. Kaufmann, 1969. Grain storage. University of Minnesota Press. U.S.A. 148 pp.
- Hanlin, T.R., 1966. Current research on peanut fungi in Georgia. Georgia Agricultural Fall. 8: (2).
- Hanlin, T.R., 1969. Fungi in developing peanut fruits. Mycopathologia et. Mycologia Applicata. 8 (2) : 93-100.

- Hanlin, T.R., 1970. Invasion of peanut fruits by Aspergillus flavus and other fungi. Mycopathologia et Mycologia Applicata 40: 340-348.
- Hanlin, T.R., 1971. Fungi isolated from young pecans. Proceedings Georgia Pecan Growers Association. 2: 20-26.
- Hanlin, T.R., 1972. Species of Sordaria from peanut and pecan fruits Bull of the Georgia Academy of Science 30: 129-141.
- Hanlin, T.R. 1974. The mycoflora of peanut fruits from foreign introductions. Tropical Science 13 (2): 147-155.
- Jackson, C.R., 1965. Peanut - pod mycoflora and Kernelinfection. Plt. Soil 23: 203-212.
- Joffe, A.Z., 1968. Mycoflora of surface sterilized groundnut kernels. Pl Dis Rep. 52 (8) : 608-611.
- Joffe, A.Z. y S.Y. Borut, 1969. Soil and kernel mycoflora of groundnut fields in Israel. Mycologia 58: 629-640.
- Raper, K.B. and D.I. Fennell, 1961. The genus Aspergillus. The Williams and Wilkins Co. U.S.A. 686 pp.