



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

FUMONISINAS, TOXINAS CONTAMINANTES DE
MAIZ, PRODUCIDAS POR *Fusarium spp.*
PROPIEDADES, INCIDENCIA Y ANALISIS

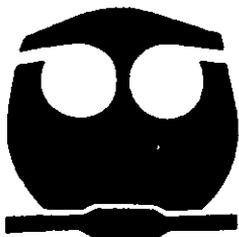
TRABAJO MONOGRAFICO DE
ACTUALIZACION

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A

290343 KARINA RAMONA YESCAS HUERTA



MEXICO, D.F.,



2001

EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO DESIGNADO

| | |
|----------------|--------------------------------------|
| Presidente: | Prof. Olga Velázquez Madrazo |
| Vocal: | Prof. Abel Gutiérrez Ramos |
| Secretario: | Prof. Javier Plasencia de la Parra |
| 1er. Suplente: | Prof. Adriana Guadalupe Mejía Chávez |
| 2do. Suplente: | Prof. Martha Giles Gómez |

Sitio donde se desarrolló el tema:
Laboratorio 101, Departamento de Bioquímica
Facultad de Química, UNAM
como parte del proyecto CONACYT 25131-B

ASESOR:

Javier Plasencia de la Parra



SUSTENTANTE:

Karina Ramona Yescas Huerta



Para la realización de este trabajo se consultaron colecciones y libros en las siguientes bibliotecas de la UNAM:

Biblioteca de la Facultad de Química Edificio A y E,
Hemeroteca de la Facultad de Química, Biblioteca del Instituto de Biomédicas,
Hemeroteca y Biblioteca de la Facultad de Medicina,
Biblioteca y Hemeroteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
y Biblioteca del Instituto de Biotecnología, así como de la Biblioteca de la UAM Iztapalapa.
Muchos de los trabajos aquí citados fueron enviados por los respectivos autores.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a la memoria de mi abuela María Luisa Martínez Terrón, mi tía
Teresa Huerta Martínez y a mi amiga y compañera de la carrera
Aida Del Carmen Rovira Ibarra

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Magdalena Huerta Martínez y Rafael Yescas Martínez por darme la vida, pero sobre todo a mi madre ya que me ha apoyado incondicionalmente tanto en mi vida personal como profesional.

A mis tías María Luisa Huerta Martínez y Teresa Huerta Martínez (descanse en paz) y a mi abuela María Luisa Martínez Terrón (descanse en paz), por cuidar de mi y darme los mejores consejos en los momentos en que más lo necesite.

A mi Asesor Javier Plasencia de la Parra por dedicarme parte de su tiempo, y darme apoyo absoluto en la elaboración de este trabajo.

A mi tío Manuel del Real González y a Francisco Domínguez Calderón por colaborar en la realización de este trabajo, así como darme su sincero apoyo a lo largo de mi carrera.

A todos mis amigos, principalmente a Iris, David, Malena, Claudia, Gabriela, Reina, Esteban, Leticia, Mónica, Aida (descanse en paz), Alondra y Verónica, por el apoyo y la solidaridad que me han brindado, y sobre todo por aquellos momentos de felicidad que hemos compartido.

ÍNDICE

| | Página |
|---|--------|
| Introducción | 1 |
| I.- Biología de <i>Fusarium moniliforme</i> | |
| A.- Clasificación taxonómica | 3 |
| B.- Distribución | 5 |
| C.- Genética | 8 |
| 1- Reproducción sexual | 8 |
| a.- Especies biológicas en <i>Gibberella fujikuroi</i> | 8 |
| b.- Diferencias asexuales entre poblaciones de apareamiento de <i>Gibberella fujikuroi</i> | 9 |
| c.- Diferencias sexuales entre poblaciones de apareamiento de <i>Gibberella fujikuroi</i> | 11 |
| d.- Poblaciones genéticas de <i>F. moniliforme</i> | 12 |
| D.- Colonización de maíz por <i>F. moniliforme</i> en el campo | 12 |
| E.- Colonización de maíz por <i>F. moniliforme</i> en granos durante el almacenamiento | 14 |
| F.- Producción de toxinas | 20 |
| II.- Estructura química de las fumonisinas | 25 |
| III.- Biosíntesis y condiciones de producción de las fumonisinas | |

| | |
|---|----|
| A- Ruta biosintética | 28 |
| B- Especies productoras del género <i>Fusarium</i> | 28 |
| C.- Relación genética de la producción de fumonisinas | 30 |
| D.- Condiciones de producción | 32 |
| 1.- Condiciones de producción en el campo | 32 |
| 2.- Condiciones de producción en medio líquido | 34 |
| 3.- Condiciones de producción en medio sólido | 35 |
| IV.- Actividad biológica | |
| A.- Efecto en la síntesis de esfingolípidos | 39 |
| B.- Efectos tóxicos en animales | 42 |
| C.- Efectos citotóxicos y fitotóxicos | 48 |
| D.- Efectos en la promoción de cáncer | 52 |
| V.- Incidencia y niveles de fumonisinas en productos agrícolas y en alimentos destinados para consumo humano y animal | |
| A.- Incidencia en productos agrícolas | 55 |
| B.- Incidencia en alimentos de consumo animal | 57 |
| C.- Incidencia en alimentos de consumo humano | 58 |
| D.- Incidencia de fumonisinas en países donde se presentan altos índices de cáncer esofágico | 60 |
| VI.- Métodos de análisis de fumonisinas | |
| A.- Muestreo | 87 |
| B.- Extracción | 88 |
| C.- Purificación | 89 |

| | |
|---|-----|
| D.- Análisis por técnicas cromatográficas | 90 |
| 1.- Cromatografía en capa fina | 90 |
| 2.- Cromatografía de gases | 91 |
| 3.- Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) | 91 |
| 4.- Cromatografía de líquidos-espectrometría de masas | 93 |
| E.- Análisis por técnicas inmunoenzimáticas | 94 |
| VII.- Estrategias de reducción del contenido de fumonisinas en maíz y alimentos derivados | |
| A.- Métodos empleados en la reducción de fumonisinas en maíz en condiciones de campo | 100 |
| 1a.- Métodos biológicos en la precosecha | 100 |
| 1b.- Métodos biológicos en la postcosecha | 100 |
| 2.- Métodos químicos | 101 |
| B.- Efecto del procesamiento de alimentos en los niveles de fumonisinas | 101 |
| 1.- Métodos químicos | 101 |
| 2.- Métodos físicos | 102 |
| VIII.- Regulación de fumonisinas en productos para consumo humano y animal | 107 |
| IX.- Discusión | 113 |
| X.- Conclusiones | 116 |
| XI.- Bibliografía | 119 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| 1.-Relación de las poblaciones de apareamiento de <i>Gibberella fujikuroi</i> con sus correspondientes anamorfos | 13 |
| 2.-Especies de <i>Fusarium</i> productoras de fumonisinas B ₁ y B ₂ | 31 |
| 3.-Condiciones óptimas de producción de fumonina B ₁ por <i>F. moniliforme</i> y <i>F. proliferatum</i> , tanto cuando colonizan solos granos de maíz, como cuando co-colonizan con otros hongos | 36 |
| 4.-Parámetros afectados por la administración de FB ₁ , FB ₂ y FB ₃ en dietas proporcionadas a ratas en un período de 3 semanas | 50 |
| 5.-Citotoxicidad de las fumonisinas FP ₁ , FB ₁ y de la serie C en líneas celulares de mamíferos | 51 |
| 6.-Fitotoxicidad de las fumonisinas de la serie C, FB ₁ y FP ₁ en cultivos de <i>Lemna pausicotata</i> L. | 51 |
| 7.-Incidencia de fumonisinas en productos agrícolas en América | 62 |
| 8.- Incidencia de fumonisinas en productos agrícolas en Europa | 63 |
| 9.- Incidencia de fumonisinas en productos agrícolas en Asia | 64 |
| 10.- Incidencia de fumonisinas en productos agrícolas en África | 65 |
| 11.- Incidencia de fumonisinas en maíz de exportación | 67 |
| 12.-Niveles de fumonisinas en alimentos para consumo animal que han sido implicados en la degeneración leucoencefálica equina | 68 |
| 13.- Niveles de fumonisinas en alimentos para consumo animal que han sido implicados con el edema pulmonar porcino | 69 |
| 14.-Niveles de fumonisinas en alimentos para consumo animal implicados con otras micotoxicosis | 70 |
| 15.-Incidencia de fumonisinas en alimentos para consumo animal no implicados con alguna micotoxicosis en América | 70 |

| | |
|--|-----|
| 16.- Incidencia de fumonisinas en alimentos para consumo animal no implicados con alguna micotoxicosis en Europa | 72 |
| 17.- Incidencia de fumonisinas en alimentos para consumo animal no implicados con alguna micotoxicosis en Asia | 73 |
| 18.- Incidencia de fumonisinas en alimentos para consumo animal no implicados con alguna micotoxicosis en África | 74 |
| 19.-Niveles de fumonisinas en muestras de alimentos derivados de maíz para consumo humano de América | 75 |
| 20.- Incidencia de fumonisinas en alimentos derivados de maíz para consumo humano de Europa | 79 |
| 21.- Incidencia de fumonisinas en alimentos derivados de maíz de África | 83 |
| 22.-Incidencia de fumonisinas en alimentos derivados de maíz para consumo humano de Asia y Oceanía | 84 |
| 23.-Niveles de fumonisinas en maíz de Transkei, Cixian, Linxian, Shangqiu y Charleston donde hay altos índices de cáncer esofágico | 85 |
| 24.-Métodos de análisis para fumonisinas por HPLC | 97 |
| 25.-Métodos de análisis para fumonisinas por cromatografía en capa fina | 99 |
| 26.-Métodos de análisis por ensayos inmunoenzimáticos | 99 |
| 27.- Niveles máximos permitidos de fumonisinas en maíz y productos derivados de maíz para consumo animal | 109 |
| 28.-Niveles máximos permitidos de fumonisinas en productos derivados de maíz para consumo humano | 111 |

Introducción

Las fumonisinas son micotoxinas producidas por algunas especies del género *Fusarium*, de las cuales, *F. moniliforme* y *F. proliferatum* son las más importantes ya que frecuentemente infectan maíz en todo el mundo. La FB₁ es el compuesto más abundante dentro de esta familia, además se encuentra como uno de los principales contaminantes de maíz de forma natural junto con la FB₂ y FB₃. Las fumonisinas B₁ y B₂ desde su aislamiento y caracterización, en Sudáfrica en 1988 han captado la atención de muchos investigadores, debido a los efectos tóxicos que presentan en algunas especies animales como caballos y cerdos. El efecto de las fumonisinas en humanos ha sido difícil de establecer, pero los estudios epidemiológicos han correlacionado su presencia en alimentos de maíz en ciertas áreas de Sudáfrica y China con altos índices de cáncer esofágico, el cual es 40 veces mayor que en el resto del mundo.

Debido a la ubicuidad de las dos especies productoras de fumonisinas y su común presencia en maíz, se han encontrado estas toxinas en productos agrícolas y productos derivados, principalmente en maíz. En México, la infección de maíz por *Fusarium spp.* es frecuente y se han aislado *F. moniliforme*, *F. proliferatum* y *F. subglutinans* de semillas de maíz. El procesamiento del maíz constituye un factor importante en la concentración de fumonisinas, ya que se ha observado que muchos de los procesos la reducen considerablemente, pero aún son detectables. De especial interés, es el hecho de que en la harina nixtamalizada y en tortillas de maíz, se detectan fumonisinas en niveles considerables (de 12 a 1800 ng/g). El tratamiento alcalino con hidróxido de calcio y la aplicación de calor húmedo reducen los niveles de fumonisinas, pero se producen la formas hidrolizadas de la toxina, originándose un producto que no pierde la toxicidad de la molécula original.

En este trabajo de actualización monográfica se revisa la biología del hongo *F. moniliforme*, fitopatógeno de maíz y principal productor de fumonisinas en este cereal. Enseguida se hace una descripción de la estructura química y condiciones de producción de la toxina, tanto en el campo como en el laboratorio, así como la actividad biológica que presenta en animales y plantas. Se presenta también una revisión de los reportes de incidencia de estas toxinas en maíz y productos derivados de éste en todo el mundo a partir de reportes originales y revisiones. Se presentan los métodos de análisis que se emplean para la detección y cuantificación de las toxinas en productos agrícolas, principalmente maíz, y sus productos derivados. Finalmente, se presenta una revisión de los estudios hechos para determinar el efecto del procesamiento de alimentos sobre la estabilidad de las fumonisinas, así como los límites establecidos en algunos países para regular los niveles de fumonisinas en alimentos para consumo humano y animal.

Cómo parte del proyecto "Búsqueda de marcadores moleculares y fisiológicos para detectar resistencia natural a la infección por *Fusarium moniliforme* en maíz" apoyado por CONACYT se ha realizado esta revisión monográfica de actualización. El objetivo principal de dicho proyecto es detectar un posible mecanismo de resistencia natural en maíz al patógeno, así como conocer la incidencia de las toxinas en maíz en México.

I.- Biología de *Fusarium moniliforme*

A. Clasificación taxonómica

La mayoría de los hongos patógenos para el hombre, animales y/o plantas están comprendidos en la subdivisión *Deuteromycotina* (López *et al.*, 1995). Esta subdivisión la conforman alrededor de 15,000 especies, las cuales se encuentran en un sólo grupo ya que aparentemente carecen de un estado sexual y por lo tanto no es adecuado colocarlos con el resto de los hongos en el sistema de clasificación, basado principalmente en el modo de reproducción sexual (Moore-Landecker, 1990). Los estudios recientes de filogenia, ontogenia conidial y de los componentes químicos de los hongos han motivado algunas reclasificaciones taxonómicas; asimismo, muchos de los géneros y especies de hongos imperfectos en los que se descubre una reproducción sexual adquieren una doble nomenclatura taxonómica, ya que también se ubican, de acuerdo con el tipo de esporas sexuales, en alguna de las cuatro divisiones de hongos perfectos.

Fusarium spp. es uno de los principales grupos de hongos que producen micotoxinas dentro de la subdivisión *Deuteromycotina*. La clasificación taxonómica de éste género es la siguiente:

- ◆ División: *Eumycota*
- ◆ Subdivisión: *Deuteromycotina*
- ◆ Clase: *Hyphomycetes*
- ◆ Orden: *Moniliales*
- ◆ Familia: *Tuberculareacea*

La compleja taxonomía de *Fusarium spp.* obligó a dividir este género en 12 secciones de acuerdo a Wollenweber & Reinking: *Eupionnotes*, *Spicarioides*, *Arachmites*, *Sporotrichiella*, *Roseum*, *Arthrosporiella*, *Gibbosum*, *Discolor*, *Lateritium*, *Liseola*, *Elegans*, *Martiella-Ventricosum* (Nelson *et al.*, 1983). Los criterios usados para formar éstas secciones fueron: a) la presencia o ausencia de microconidios, b) la

forma de los microconidios, c) la presencia o ausencia de clamidosporas, d) la localización de las clamidosporas, e) la forma del macroconidio, y f) la forma de la célula basal en los macroconidios. Las principales especies caracterizadas por ser patógenos y toxigénicas en animales, plantas o humanos se concentran en cuatro de las secciones (Bullerman, 1997). Estas secciones son: *Sporotrichiella* (*F. sporotrichioides* y *F. poae*), *Gibbosum* (*F. equiseti*), *Discolor* (*F. graminearum* y *F. culmorum*) y *Liseola* (*F. moniliforme*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans*).

La sección *Liseola* es utilizada para separar especies de un género amplio en unidades más pequeñas con características similares. La morfología de los macroconidios se mantiene como la característica principal para definir varias especies de *Fusarium*. Sin embargo, esto no es un criterio confiable para separar las especies en la sección *Liseola* ya que hay que considerar que coinciden en la morfología de los macroconidios entre especies. Por lo tanto, estas especies se distinguen por la morfología y modo de formación de los microconidios. Una característica particular de las especies en la sección *Liseola* es que no forman clamidosporas. En esta sección ambos macroconidios y microconidios son endoconidios formados en el interior de la hifa o conidióforo. El conidio es formado en monofialides o polifialides. Una monofialide es una célula que desarrolla en un extremo abierto mientras la polifialide es una célula que desarrolla dos o más extremos abiertos a partir de una sucesión basipetal de conidias desarrolladas (Nelson, 1992 a).

La especie representativa y más importante dentro de la sección *Liseola* es *Fusarium moniliforme* cuyas características microscópicas y macroscópicas se describen a continuación:

Características microscópicas

- ❖ Conidios. Los microconidios son abundantes y son por lo general células solas, ovales o hasta con forma de bastón. (Fig. 1). Los macroconidios son escasos y forman cadenas largas y falsas cabezas. Su apariencia varía de un poco curvo hasta casi rectos con una superficie dorsal y ventral casi

paralelos, y poseen una pared delgada y fina. La célula basal tiene la forma de un pie (Fig. 2).

- ❖ Conidióforos. Se presentan solo monofialides.
- ❖ Clamidosporas. Son ausentes.

Las descripciones de conidios y conidióforos están basadas en cultivos de 10 a 14 días en placas de agar en cuya superficie se coloca una hoja de clavel esterilizada y donde forma el hongo las estructuras características (Nelson *et al.*, 1983).

Características macroscópicas

Las características coloniales del hongo se observan en agar papa-dextrosa (en cultivos de 10 a 14 días en agar inclinado) donde crece rápidamente presentando un micelio blanco y con frecuencia puede presentar una coloración púrpura. El esporodoquio puede estar presente o ausente y cuando está presente puede ser de color marrón-amarillo a naranja. La esclerotia también puede desarrollarse y es usualmente de color azul oscuro, puede ser tan abundante y dar esta coloración por la parte superior e inferior de la superficie de la colonia. El reverso de la colonia (Fig. 3) varía de incoloro a púrpura oscuro (Nelson *et al.*, 1983).

B. - Distribución

F. moniliforme. es un hongo cosmopolita distribuido ampliamente en todo el mundo y se ha aislado de una gran variedad de plantas hospedadoras como sorgo, caña de azúcar, trigo, arroz, cebada e higo (Visconti, 1994; Tseng *et al.*, 1995; Leslie, 1995, 1996). Además es uno de los hongos predominantemente asociados a maíz (*Zea mays* L.) en áreas de producción de este cereal en el mundo, aislándose con frecuencia de semillas y de productos de consumo básico para el hombre y animales, derivados de este cereal, (Marasas *et al.*, 1984). Su incidencia es mayor en climas tropicales y subtropicales (Pascale *et al.*, 1997).

La presencia de este hongo se asoció a enfermedades de etiología alimentaria en el hombre y animales desde que fue descrito originalmente en 1904 (Nelson, 1992 a). A principios del siglo XX se relacionó con la incidencia de enfermedades de animales que ingirieron maíz enmohecido en los Estados Unidos, donde se reportaron casos en los cuales las pesuñas del ganado vacuno y los cascos de los caballos se desprendían, los cerdos perdían pelo, los pollos perdían sus plumas, y algunos animales desarrollaban convulsiones, y en general, un porcentaje alto de los animales afectados morían. *F. moniliforme* fue el hongo comúnmente asociado al maíz que los animales habían ingerido implicándose como el agente etiológico de estas toxicosis alimentarias (Nelson *et al.*, 1993).

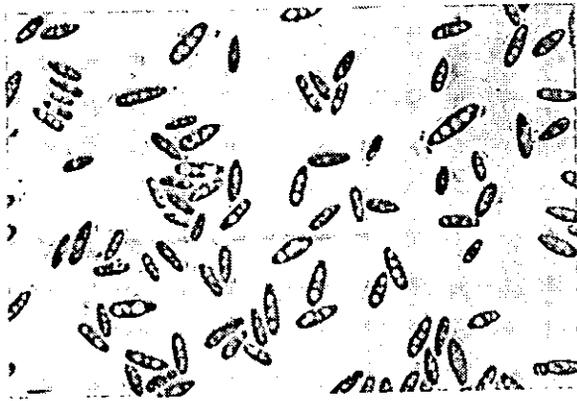


Fig.1. Microconidios de *Fusarium moniliforme* producidos en el micelio aéreo (X1000) (Nelson *et al.*, 1983).

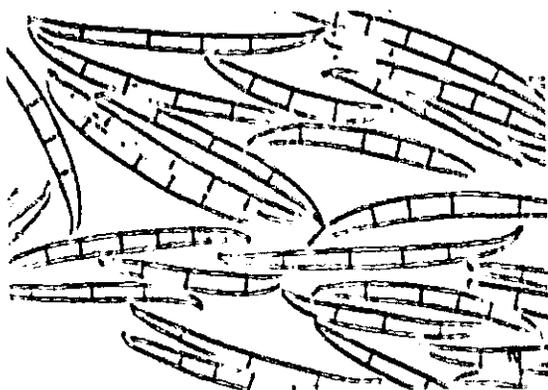


Fig.2. Macroconidios de *Fusarium moniliforme* producidos en el esporodoquio (X1000) (Nelson *et al.*, 1983).



Fig.3. Morfología colonial de *Fusarium moniliforme* en agar papa dextrosa. En el anverso de la colonia se observa la formación de micelio aéreo blanco, y en el reverso una coloración púrpura (Nelson *et al.*, 1983).

C.- GENÉTICA

1.- Reproducción sexual

La reproducción sexual o perfecta, característica de los hongos teleomorfos se da por la unión de células haploides (N), en tanto que la asexual o imperfecta (hongos anamorfos), se da a partir de un micelio aéreo, sin fusión de los núcleos. La reproducción sexual, como en otros organismos, involucra tres etapas clave; fusión celular (plasmogamia) que ocurre en dos células haploides, típicamente uninucleada y a partir de organismos separados, fusión nuclear (cariogamia) que da lugar a una célula con un solo núcleo diploide y finalmente la meiosis, la cual establece el estado haploide, transformando una célula diploide en cuatro células haploides (Carlile y Watkinson, 1994).

a.- Especies biológicas en *Gibberella fujikuroi*

El estado perfecto o sexual de *F. moniliforme* es *Gibberella fujikuroi*, el cual también se ha reconocido como el teleomorfo de otras especies de *Fusarium* de la sección *Liseola*. Dentro de la especie *G. fujikuroi* hay entidades biológicas con alta similitud morfológica por lo que se han definido las poblaciones de apareamiento. Estas agrupan a todos los miembros de una población que son capaces de cruzarse para producir una progenie fértil. En la Tabla 1 se muestra una recopilación de las poblaciones de apareamiento y los anamorfos con los cuales han sido asociados (Nelson *et al.*, 1983; Leslie, 1995, 1996).

Las tres primeras poblaciones de apareamiento, denominadas A, B, y C fueron descritas por Hsieh en 1977, y la cuarta, D, por Kathariou en 1981. Kuhlman en 1982 describió las cuatro poblaciones de apareamiento como variedades con características similares. Durante la pasada década se ha reunido una colección de aproximadamente 5000 cepas aisladas de éste grupo y se identificaron dos poblaciones adicionales de apareamiento, la E y la F, una de las cuales, la F, fue descrita como *F. moniliforme* pero ahora se le conoce como *F. thapsinum* (Klittich *et*

al., 1997). Una séptima población de apareamiento, la G ha sido adicionada, y de la cual el anamorfo es *Fusarium nygamai*, pero aún no ha sido descrita formalmente en detalle (Leslie, 1995, 1996).

La designación de los anamorfos correspondientes a cada población de apareamiento ha causado confusión en la literatura, ya que, por ejemplo, en el caso de *F. moniliforme*, hay desacuerdo sobre el nombre adecuado de esta especie, ya que en un principio se le conocía como *F. verticillioides*. Además en muchos de los casos la mejor característica morfológica es insuficiente para distinguir especies biológicas muy similares, tal es el caso de especies hermanas, como lo son las poblaciones de apareamiento A y F, las cuales comparten el anamorfo *F. moniliforme*, ahora reclasificado como *F. thapsinum* (Leslie, 1995, 1996).

b.- Diferencias asexuales entre poblaciones de *G. fujikuroi*

Las poblaciones de apareamiento de *G. fujikuroi* se pueden distinguir unas de otras usando criterios diferentes a las cruza sexuales. Algunos de estos criterios son suficientes para resolver todas las poblaciones de apareamiento, pero otros criterios las dividen en menos de seis grupos. Estos criterios se describen a continuación.

Producción de fumonisinas. La producción de fumonisinas es la característica más importante que se conoce para distinguir a la población de apareamiento A ya que estas cepas son generalmente capaces de sintetizar estos compuestos en altas cantidades. Los miembros de la población de apareamiento D son también conocidos por producir cantidades significativas de fumonisinas, mientras que, los miembros de la población de apareamiento F los producen en menor cantidad (Moretti *et al.*, 1995). Los miembros de las poblaciones B y E son conocidos por no producir fumonisinas. En contraste, las pocas cepas de la población de apareamiento C que han sido estudiadas, no producen fumonisinas, pero su relación con la población D sugiere que algunas cepas pueden ser capaces de sintetizar fumonisinas, Tabla 1 (Leslie, 1996).

Preferencia por hospederos. La planta hospedera de donde fue aislada cierta cepa es una característica que puede ser usada para distinguir algunas de las poblaciones de apareamiento. La población A es muy común en maíz donde constituye más del 90% de las cepas aisladas de las semillas. Los miembros de la población de apareamiento D y E también pueden aislarse con frecuencia de maíz, especialmente del tallo, mientras que los miembros de la población B y F son encontrados con baja frecuencia en este hospedero. En sorgo, la población F predomina, pero las poblaciones D y B son recuperadas con significativa frecuencia en algunas situaciones. En higo, la población A predomina mientras que la población D es más común en espárrago; y la población C se caracteriza por la producción de altos niveles de ácido giberélico y por ser el agente etiológico de la enfermedad de bakanae en arroz (Leslie, 1995, 1996; Desjardins *et al.*, 1997; Logrieco *et al.*, 1998; Desjardins *et al.*, 2000).

Isoenzimas. Dentro de las poblaciones de apareamiento de *G. fujikuroi* nueve isoenzimas examinadas han resultado monomórficas, y sólo hay polimorfismo en la población de apareamiento F para la isocitrato deshidrogenasa. En el contexto de la producción de fumonisinas, los miembros de la población A tienen una distinción en una banda de la triosafosfatoisomerasa y esto es útil cuando se evalúan cultivos de cepas recuperadas de maíz o de productos contaminados con fumonisinas (Leslie, 1995, 1996).

Las otras dos características que se han propuesto para dividir a las poblaciones de apareamiento son la resistencia a antibióticos, especialmente a la higromicina y al benomyl, y la secuencia espaciadora entre los genes de RNA ribosomales. Sin embargo ninguna de éstas se ha estudiado en un número suficientemente grande de cepas para permitir una clara identificación como grupo (Leslie, 1995, 1996).

c.- Diferencias sexuales entre las especies biológicas de *G. fujikuroi*

Para distinguir las poblaciones de apareamiento se realizan cruza en agar-zanahoria, ya que es el medio adecuado para inducir la producción de esporas sexuales. Estas cruza toman aproximadamente cinco semanas para completarse y son definitivas cuando se observa la formación de ascosporas localizadas en peritecios (Leslie, 1995, 1996).

Dentro de una población de apareamiento, el intercambio genético entre diferentes individuos puede ocurrir por recombinación sexual o asexual. La recombinación genética sexual es gobernada principalmente por los genes del tipo de apareamiento y por los genes responsables de la fertilidad, tanto masculino como femenino.

Con frecuencia los gametos masculino y femenino no se puede identificar y para ello se designan dos tipos de micelio, denominados tipos de apareamiento, con la notación (+), (-), e indican que (+) puede fertilizar a (-) (Griffin, 1994). Las poblaciones conocidas de *G. fujikuroi* son todas heterotálicas, es decir son especies que requieren la interacción de dos cepas de diferente tipo de apareamiento.

Cuando no se conoce la población de apareamiento a la que pertenece cierta cepa, entonces ésta es usada como donadora en cruza con cepas de prueba de cada una de las poblaciones de apareamiento. Una cruza exitosa identifica a la población de apareamiento a la cual pertenece la cepa que es fértil como donadora. Hay cepas que pueden funcionar tanto como donadoras como receptoras y se les llama hermafroditas (Leslie, 1995, 1996).

En el caso de la recombinación genética asexual se requiere de la formación de un heterocarion. La formación de tal heterocarion requiere la capacidad de las hifas de diferentes cepas para fusionarse y que el heterocarion resultante sea suficientemente estable para que de esta manera la cariogamia, recombinación parasexual y la segregación tengan suficiente tiempo para ocurrir (Leslie, 1995, 1996).

d.- Poblaciones genéticas de *F. moniliforme*

Hay algunos estudios que se han enfocado sobre el loci de la incompatibilidad vegetativa (*vic*), el cual es responsable del fenotipo del grupo de compatibilidad vegetativa (VCG). Este loci gobierna la estabilidad del heterocarion que tiene que ser formado, pero no afecta directamente la capacidad que tienen dos cepas para fusionarse físicamente una con otra. Las cepas que son idénticas en todos los loci *vic* son capaces para formar un heterocarion estable y se dice entonces que son compatibles vegetativamente y pertenecen al mismo grupo de compatibilidad vegetativa (VCG). Las cepas que son incapaces de fusionarse apropiadamente han sido identificadas como heterocarion auto-incompatible (Leslie, 1995, 1996).

D. - Colonización de maíz por *F. moniliforme* en el campo

F. moniliforme es capaz de colonizar maíz en todos los estados de desarrollo y en distintos órganos, tales como raíz, tallo, mazorca y granos. En muchos casos, aunque está presente no es conspicuo al no causar daño visible. La infección asintomática puede existir en toda la planta, y ser transmitida por las semillas desarrollando una infección sistémica (Munkvold y Desjardins, 1997). Mientras que muchas plantas son asintomáticas, el daño en tallo y mazorcas es algunas veces dramático (Fig.4-5).

El ciclo de infección de *F. moniliforme* en maíz (Fig. 6) es complejo y las vías de infección son diversas. Debido a que *F. moniliforme* es un saprófito, puede sobrevivir en restos de cultivos de maíz infectados, de esta manera, en suelo puede infectar la raíz y tallo de plantas de maíz. En general, su entrada es favorecida por daño mecánico o por insectos. En algunas ocasiones la infección en tallo puede ser sistémica en la planta, dañando de esta forma otros órganos de la planta.

Tabla 1. Relación de las poblaciones de apareamiento de *Gibberella fujikuroi* con sus correspondientes anamorfos de *Fusarium* y sus características principales.

| Población de apareamiento de <i>G. fujikuroi</i> | Especie de <i>Fusarium</i> Anamorfo | Producción de Fumonisin | Planta hospedera donde se ha aislado |
|--|--|---|--|
| A | <i>F. moniliforme</i> <i>F. verticillioides</i> | ++++ ++++ | Maíz, sorgo, arroz, caña de azúcar, trigo, cebada higo |
| B | <i>F. subglutinans</i> <i>F. sacchari</i> <i>F. neoceras</i> | - NR NR | Sorgo, maíz |
| C | <i>F. fujikuroi</i> <i>F. proliferatum</i> | -/+ -/+ | Arroz, sorgo, maíz, trigo |
| D | <i>F. proliferatum</i> | ++++ | Espárrago, sorgo, maíz, arroz |
| E | <i>F. subglutinans</i> <i>F. sacchari</i> var. <i>subglutinans</i> | - NR | Sorgo, maíz |
| F | <i>F. thapsinum</i> | + | Sorgo, maíz |
| G | <i>F. nygamai</i> | +++ | Sorgo ^b |
| Desconocida | <i>F. anthophilum</i> <i>F. annulatum</i> ^a <i>F. beomiforme</i> <i>F. dlamini</i> <i>F. napiforme</i> <i>F. proliferatum</i> var. <i>minus</i> <i>F. sacchari</i> var. <i>elongatum</i> <i>F. succisae</i> ^a | +++ - - + ++ NR NR - | Orquídea Arroz Se encuentra solamente en suelo Sorgo y mijo |

(++++) producción abundante

(+) producción escasa

(++) producción moderada

(-) no hay producción

NR-no hay reporte de su producción

^a especies poco comunes, ^b también se aísla de suelo

Las vías más comunes de infección son mazorcas y granos, donde también causa pudrición del tejido (Munkvold y Desjardins, 1997). En las mazorcas la infección por otros hongos, el daño mecánico o daño causado por insectos, pueden predisponer la entrada de *F. moniliforme*. La infección en el tejido dañado a menudo ocurre debido a la transmisión del hongo por aire o lluvia (Munkvold y Desjardins, 1997).

En los granos hay varios caminos por los cuales *F. moniliforme* puede infectar. Algunos de estos son: a) Durante la floración, donde las mazorcas de maíz son más susceptibles a la infección por *F. moniliforme*, el hongo parece entrar por el pistilo, crecer sobre el pericarpo y por tanto en el grano. Las hifas entonces pueden crecer en el espacio entre el pedicelo y la capa final, y ser encontradas ocasionalmente en el embrión y en el endospermo; b) Las hifas del hongo pueden penetrar a través de fisuras en la superficie del pericarpo y crecer así en el interior del grano (Fig. 7); c) La hifa también puede entrar por el grano en puntos donde emerge la plántula y así el micelio puede crecer por este camino y tener acceso directo al tejido del embrión (Nelson, 1992 a).

E.- Colonización en granos de maíz durante el almacenamiento

En semillas infectadas que son almacenadas bajo ciertas condiciones puede continuar el crecimiento del hongo. La temperatura y la disponibilidad de agua son dos factores importantes en la colonización por hongos durante el almacenamiento de granos. Marín *et al.* (1995 a,b) han determinado el efecto de la disponibilidad de agua (a_w , 0.90-0.994), temperatura (4-45°C) y pH (3.6, 5.5, 7.0) en la interacción con el crecimiento de *F. moniliforme* (cepas 25N) y *F. proliferatum* (cepas 73N, 131N) en maíz. En donde las condiciones óptimas de crecimiento para *F. moniliforme* fueron en a_w 0.98-0.994 y 25-30°C, y para *F. proliferatum* fueron en a_w 0.994 y 25-30°C. El rango mínimo de crecimiento se encontró en a_w 0.89-0.90 en la temperatura óptima. No se observó crecimiento en 40 o 45°C. El valor óptimo de pH y temperatura para

el crecimiento fue a pH 5.5 y 25°C para ambas cepas (73N, 131N) de *F. proliferatum*, y pH de 7.0 y 30°C para la cepa (25N) de *F. moniliforme*.

En estudios posteriores Marín *et al.* (1996) y Velluti *et al.* (2000) encontraron las mismas condiciones óptimas de crecimiento para *F. moniliforme* y *F. proliferatum*, pero Marín *et al.* (1996) encontraron que en estas condiciones también ocurre la germinación de microconidios, obteniendo una pequeña variación en el rango de temperatura para *F. moniliforme* de 25 a 37 °C.

También se ha estudiado el efecto de diferentes disponibilidades de agua (actividad de agua, a_w , 0.93, 0.95, 0.98) y el tiempo (15 días) en la producción de siete enzimas hidrolíticas (α -D-galactosidasa, β -D-glucosidasa, N-acetil- β -D-glucosaminidasa, β -D-fucosidasa, α -D-manosidasa, β -D-xilosidasa y N-acetil- α -D-glucosaminidasa) por *F. moniliforme* y *F. proliferatum* durante la colonización temprana de granos de maíz tratados, con rayos gamma. En este estudio se mostró que *F. moniliforme* y *F. proliferatum* son capaces de colonizar granos de maíz viables en amplios rangos de a_w y producen varias enzimas hidrolíticas.

Tres de estas enzimas, α -D-galactosidasa, β -D-glucosidasa, N-acetil- β -D-glucosaminidasa, se produjeron durante los primeros 3 a 9 días, además de ser las enzimas que predominan. Las cuatro enzimas restantes, β -D-fucosidasa, α -D-manosidasa, β -D-xilosidasa y N-acetil- α -D-glucosaminidasa, fueron producidas en muy bajas cantidades. Hubo un incremento significativo en la producción total de las tres principales enzimas entre los 3 y 15 días de colonización, y entre los 3 y 6 días en términos de actividad específica. Este estudio sugiere que la producción y cuantificación de α -D-galactosidasa, β -D-galactosidasa, β -D-glucosidasa, N-acetil- β -D-glucosaminidasa, pueden ser indicadores importantes de la colonización de *F. moniliforme* y *F. proliferatum* en maíz ya que aumentan durante ésta (Marín *et al.*, 1998a).

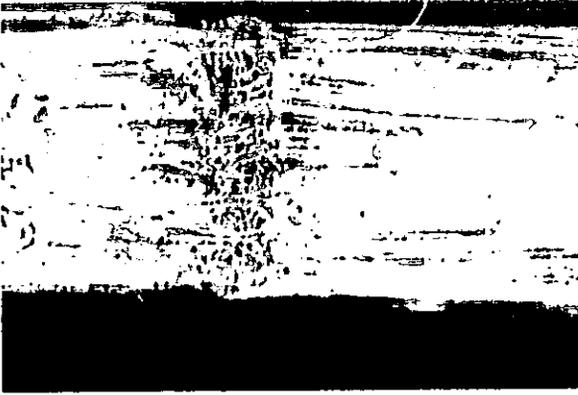


Fig. 4 Pudrición de la base del tallo de una planta de maíz causada por *F. moniliforme* (Munkvold y Desjardins, 1997).

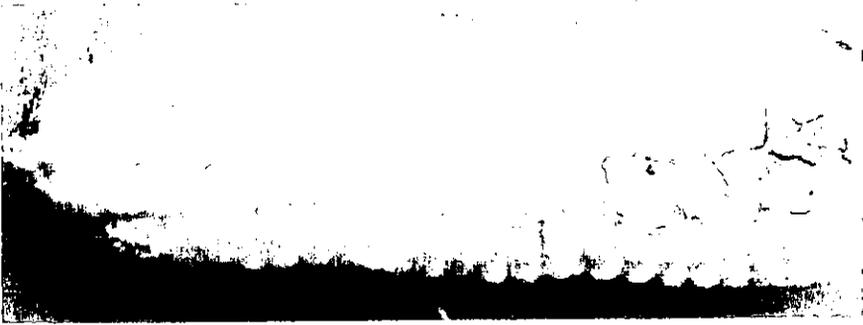


Fig. 5 Infección de una mazorca de maíz por *F. moniliforme*, donde puede observarse el micelio blanco producido por el hongo (Munkvold y Desjardins, 1997).

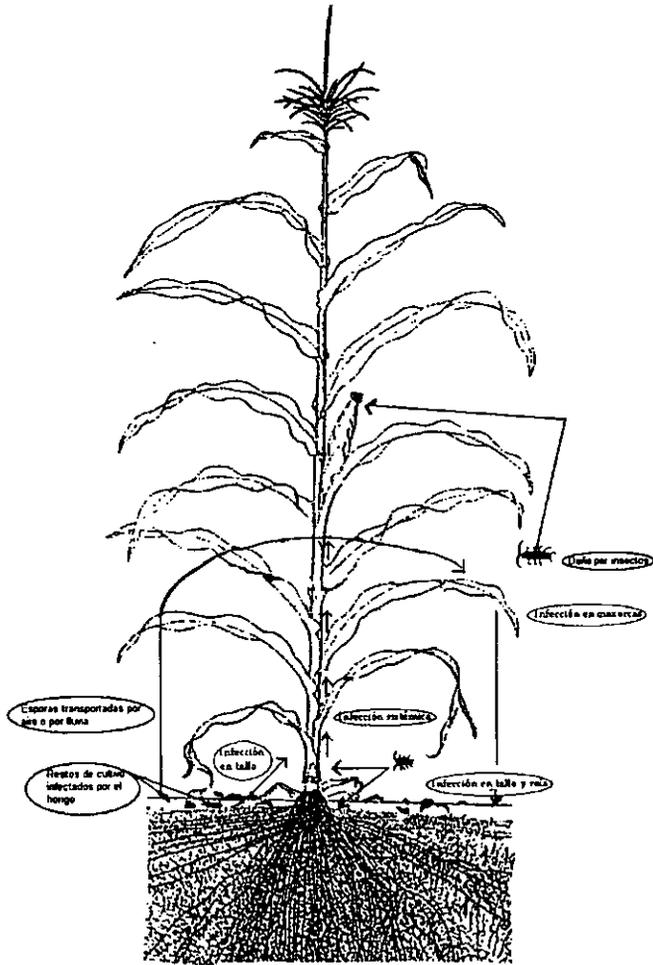


Fig.6 Ciclo de infección de *Fusarium moniliforme* en maíz. Varias vías de infección son ilustradas, pero la más común es la que ocurre en granos a través del pistilo o de daño por insectos.

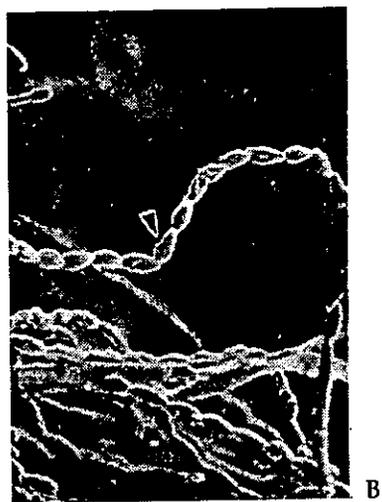
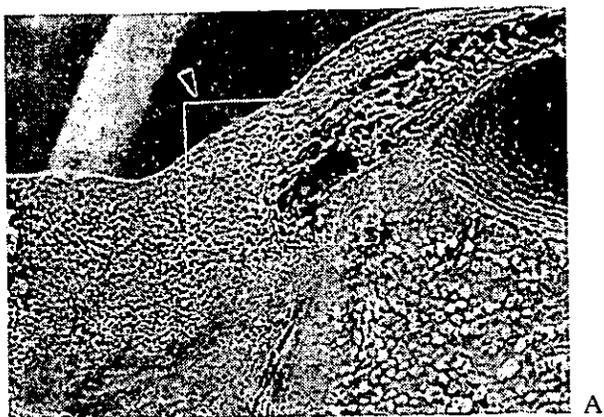


Fig.7 A Localización de *Fusarium moniliforme* (flechas) dentro de una sección longitudinal de un grano de maíz visto en una micrografía electrónica. B Cadena de microconidias de *F. moniliforme* del grano de maíz incubado en el medio agar papa dextrosa (Bacon y Williamson, 1992).

F. moniliforme y *F. proliferatum* son dos importantes colonizadores de maíz que se han aislado tanto antes como después de la cosecha, así como durante el almacenamiento. Para su establecimiento, estos hongos necesitan competir efectivamente con otros colonizadores como son algunas especies del género *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. niger* y *A. ochraceus*) y *Penicillium* (*P. implicatum*). Debido a la incidencia de estos hongos en granos almacenados se han realizado estudios para determinar la influencia de diversos factores ambientales en el crecimiento y competencia de estos hongos en el almacenamiento.

Dos factores de particular importancia son la temperatura y la disponibilidad de agua (a_w) en la competencia entre algunos grupos de hongos en granos de maíz. En a_w de 0.93 y 0.95 a 15°C se ha mostrado que hay una inhibición mutua por parte de ambas especies de *Fusarium* cuando se encuentran co-colonizando con *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. flavus* y *P. implicatum*, lo cual se refleja en una disminución del porcentaje de infección por ambas especies de *Fusarium*. En a_w de 0.98 y 25°C, tanto *F. moniliforme* como *F. proliferatum* inhiben el crecimiento de *A. ochraceus* y *P. implicatum*, en cambio, son dominados en las mismas condiciones por *A. flavus* y *A. niger*, observándose una reducción tanto del crecimiento como del porcentaje de infección en granos de maíz, alcanzando en este último una disminución del 45 y 30%, respectivamente, después de 2 semanas, y de casi un 80%, después de 4 semanas en ambas especies (Marin *et al.*, 1998 b,c).

En presencia de *F. graminearum*, otro colonizador de maíz, el crecimiento de *F. moniliforme* y *F. proliferatum* solo se ve disminuido en un 17 y 5-11%, respectivamente, en un amplio rango de a_w de 0.93 a 0.98 y tanto a 15 como a 25°C. En cambio, la co-inoculación de *F. moniliforme* y *F. proliferatum* tiene un limitado efecto inhibitorio en el crecimiento de *F. graminearum* (Velluti *et al.*, 2000).

F.- PRODUCCIÓN DE TOXINAS

Las cepas de *F. moniliforme* producen varias toxinas y compuestos con acción fitohormonal, entre las cuales se encuentran el ácido fusárico, fusarinas (fusarina C), giberelinas, moniliformina, zearalenona, tricotecenos y fumonisinas (Nelson, 1992 a; Bacon y Williamson, 1992; Tay, 1995; Sweeney y Dobson, 1998).

Ácido fusárico. El ácido fusárico (ácido 5-n-butilpiridina-2-carboxílico) y el ácido dehidrofusárico son producidos en grandes cantidades y han sido aislados a partir de tejidos de plantas infectadas. La aplicación del ácido fusárico en plantas induce un incremento en la pérdida de agua y el paso de solutos ya que hay daño en las membranas celulares. Esta toxina tiene actividad de quelante de metales pesados, particularmente hierro, resultando en una inhibición de enzimas tal como la porfirina oxidasa. El resultado final es la reducción de la respiración en la planta. También el cobre, cobalto, níquel, zinc y manganeso, son quelados por el ácido fusárico (Bacon y Williamson, 1992).

Para probar el modo de acción del ácido fusárico sobre la respiración de la planta y su influencia en la germinación de semillas se probaron nueve variedades de maíz germinando en presencia de ácido fusárico en cinco concentraciones (5.6×10^{-2} , 5.6×10^{-3} , 5.6×10^{-4} , 5.6×10^{-5} y 5.6×10^{-6} M). La germinación de todas las variedades fue completamente inhibida por las dos concentraciones más altas, mientras que concentraciones menores a 10^{-5} M no afectaron la germinación en ninguna de ellas. Los efectos del ácido fusárico en plántulas de maíz ocurren en concentraciones similares. Estos efectos en hojas de plántulas de maíz son reflejo del daño sobre la membrana celular en concentraciones entre 10^{-3} y 10^{-4} M, pero en bajas concentraciones 10^{-5} y 10^{-6} M, solamente las membranas de la mitocondria y cloroplastos son dañadas (Bacon y Williamson, 1992).

Fusarinas. En pruebas de mutagenicidad de extractos provenientes de cepas de *F. moniliforme* crecidas en maíz mostraron que 21 de las 33 cepas produjeron algún mutágeno activo en la cepa TA100 de *Salmonella typhimurium*. En 1983 se mostró que las cepas de *F. moniliforme* aisladas a partir de maíz de la provincia Transkei en Sudáfrica, producen compuestos que son mutagénicos en el ensayo de *Salmonella*. El principal compuesto mutagénico purificado a partir de la cepa MRC 826 de *F. moniliforme* fue identificado como fusarina C (Nelson *et al.*, 1993).

Giberelinas. Las giberelinas fueron originalmente caracterizadas como promotores de crecimiento en plantas a partir de cultivos de *Gibberella fujikuroi* de arroz. En este cereal el hongo causa una elongación rápida de tallo/espiga el cual puede conseguirse por aplicación tópica de las giberelinas. Cuando las plantas de avena infectadas con cepas de *F. moniliforme* son productoras de giberelinas hay mayor producción de hifas dentro del tejido hospedero que en la infección por cepas no productoras de giberelinas. Estos datos sugieren que la giberelina puede incrementar el crecimiento de *F. moniliforme*, el cual podría indirectamente influir en la patogenicidad. Se ha propuesto que este regulador de crecimiento puede controlar la producción de toxinas al incrementar la biomasa fúngica (Bacon y Williamson, 1992).

Moniliformina. La moniliformina (1-hidroxíciclobut-1eno-3,4-diona) es producida solamente un pequeño porcentaje de cepas o no producida por cepas de *F. moniliforme*. Dentro de la sección *Liseola* la moniliformina es producida por *F. proliferatum*, *F. subglutinans* y *F. anthophilum* (Bacon y Williamson, 1992; Nelson, 1992; Desjardins *et al.*, 1997).

La moniliformina es un compuesto altamente tóxico que causa una muerte rápida y lesiones patológicas que incluyen degeneración del miocardio y necrosis en animales experimentales.

Zearalenona (Toxina F-2) es una lactona del ácido fenílico resorcílico, producida por cepas de *F. moniliforme*, *F. graminearum* y *F. equiseti*. Se encuentra principalmente en maíz y trigo, aunque en algunas ocasiones es posible encontrarla en cebada y piensos. El maíz contaminado con zearalenona al ser incorporado a alimentos que son ingeridos por cerdos, causa un síndrome estrogénico; las hembras desarrollan glándulas mamarias edematosas y tumefacción de la vulva, fallas en la reproducción por atrofia ovárica y los machos, con testículos disminuidos, se vuelven estériles. La zearalenona interfiere en el metabolismo de los aminoácidos libres, al promover la síntesis de proteínas uterinas, en lugar de sólo producir las necesarias para el desarrollo del animal; y en el sistema hormonal, por sus propiedades estrogénicas, compite con las hormonas sexuales, en los receptores celulares del estradiol. La actividad hiperestrogénica produce un falso celo, infertilidad y cuando hay camadas éstas son escasas. La zearalenona reduce la producción de huevos en pavas y en gallinas. En bovinos baja la fecundidad también pero no son tan susceptibles como los porcinos (Tay, 1995).

Tricotecenos. Los tricotecenos son un grupo de micotoxinas producidas por una amplia variedad de diferentes especies de *Fusarium* entre las que destacan *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. moniliforme* y *F. sporotrichioides*. Sin embargo hongos de otros géneros como *Cephalosporium*, *Cylindrocarpon*, *Mycothecium*, *Trichothecium*, *Trichoderma*, *Stachybotrys*, *Verticimonosporium* también los producen (Sweeney y Dobson, 1998). Los tricotecenos son las micotoxinas con mayor diversidad estructural. Estos son sesquiterpenos tricíclicos con un sistema de anillo básico 12,13-epoxi-tricotec-9-eno. Estas micotoxinas pueden ser designadas en 4 subclases: Tipo A que tiene otro grupo funcional diferente a la cetona en la posición C-8; Tipo B que tiene una cetona en la posición C-8; Tipo C que posee un segundo grupo epoxi en la posición C-7, 8 o C-9, 10 y Tipo D contiene un anillo macrocíclico entre C-4 y C-5 con dos ésteres de unión. Desde el punto de vista toxicológico, el hecho de que un gran número de tricotecenos son producidos en mezclas por *Fusarium*

spp., incluso bajo condiciones de cultivo puro, tiene como consecuencia una difícil identificación de la toxina que causa el efecto. Estas toxinas son inmunotóxicas y potentes inhibidores de la síntesis de proteínas, lo cual predispone a los animales a otras enfermedades, y enmascara toxicosis anteriores. La exposición a alimentos contaminados con tricotecenos puede permitir un incremento en la susceptibilidad a infecciones de tipo microbiano (*Listeria*, *Salmonella*, *Mycobacterium*) e infecciones por *Candida* y *Criptococcus* (Doyle et al., 1997). Los porcinos y otros animales monogástricos, incluyendo el hombre presentan una mayor susceptibilidad a éstas toxinas (Sweeney y Dobson, 1998; Doyle et al., 1997). El deoxinivalenol (DON) es un tricoteceno producido tanto por *F. moniliforme* como por otras especies de *Fusarium*, como *F. graminearum*. A ésta toxina se le nombra vomitoxina, por los efectos de rechazo al alimento contaminado y vómito que se induce. En Japón puede afectar el 30% de la producción anual de cereales en forma esporádica y se asocia a brotes de micotoxicosis en humanos, caracterizado por anorexia, náusea, vómitos, cefalea, dolor abdominal, diarrea, escalofríos y convulsiones. Estos síntomas pueden ser producidos por varias toxinas de las especies de *Fusarium* de manera conjunta, aunque se han encontrado en los alimentos principalmente DON y nivalenol (Tay, 1995).

Fumonisinias. Las fumonisinias fueron reportadas y caracterizadas por primera vez por un grupo de investigadores en Sudáfrica en 1988, y de manera independiente fue aislada y caracterizada por un grupo de investigadores en Nueva Caledonia (Nelson, 1992 a). La estructura de este grupo de micotoxinas es descrita con detalle en el Capítulo II.

La fumonisina más abundante fue designada como fumonisina B₁ (FB₁) siendo producida de forma natural y en cultivos de maíz. Aunque esta toxina fue identificada como una nueva micotoxina, su estructura es muy similar a la toxina AAL, la cual es un monoéster de ácido propano-1,2,3-tricarboxílico y 2,4,5,13,14-penta-hidroxi-heptadecano (Nelson et al., 1993). Esta toxina es producida por

Alternaria alternata f. sp. *lycopersici* que es patógeno foliar del tomate (Bacon y Williamson, 1992).

Las fumonisinas B₁, B₂ y B₃ han sido detectadas en maíz, y cuyo consumo se ha asociado con un alto por ciento de los casos de cáncer esofágico en Sudáfrica, China, Italia y los Estados Unidos, y donde, solamente la fumonisina B₁ ha sido implicada como un agente promotor de cáncer (Nelson, 1993).

II.- Estructura química de las fumonisinas

Aunque la fumonisina B₁ es el compuesto más abundante que producen las cepas de *F. moniliforme*, se han aislado hasta la fecha más de 10 compuestos con una estructura química relacionada.

La estructura química básica de las fumonisinas consiste en una alquilamina de 20 carbonos con uno o dos grupos hidroxilo y un uno o más grupos metilo y ácido tricarbálico esterificado. En las fumonisinas de la serie A y P, el grupo amino se encuentra esterificado. Las fumonisinas de la serie B fueron las primeras en describirse y su presencia como contaminante de maíz ha sido confirmada por múltiples autores (Capítulo V). La fumonisina C₁ se ha encontrado en muestras de maíz, pero constituyendo únicamente el 1% de la cantidad de fumonisinas. Asimismo las fumonisinas A₁ y A₂ se encuentran también en bajas concentraciones en relación a las fumonisinas de la serie B (Nelson *et al.*, 1993; Sweeney y Dobson, 1998).

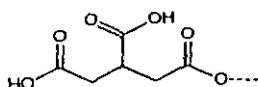
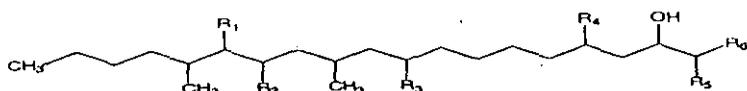
En la Figura 8 se muestran 14 de las fumonisinas descritas hasta la fecha, donde se presentan los sustituyentes y su peso molecular.

Musser y Plattner (1997) hicieron un estudio sobre el tipo de fumonisinas producidas en cultivo sólido de maíz empleando ocho cepas de tres especies productoras de fumonisinas, *F. moniliforme*, *F. proliferatum* y *F. nygami*, debido a que la mayoría de las fumonisinas que se han identificado en cultivo no ocurren de forma natural. En este estudio se confirmó la presencia de FB₄ (PM=693) como una trihidroxifumonisina. Además de FB₄, se describieron dos nuevas fumonisinas en los extractos del cultivo, la primera un compuesto de la serie B designado FB₅

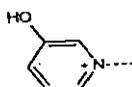
(PM=737) el cual tiene una cadena hexahidroxiálquil y la segunda, designada FBK₁ (PM=562) es una forma deacetilada de FAK₁.

Las fumonisinas son compuestos polares, solubles en metanol, agua y acetonitrilo. En relación a su estabilidad las fumonisinas son termoestables, pero que cuando son sometidas a temperaturas mayores a 175°C, en pH ácidos o alcalinos, por 60 min estas toxinas se descomponen. Como productos de descomposición se obtienen dos tipos, tanto para FB₁ y FB₂, un producto parcialmente hidrolizado (PHFB₁ y PHFB₂), en pH ácidos; y otro completamente hidrolizado (HFB₁ y HFB₂), en pH alcalinos (Jackson *et al.*, 1996 a,b).

Figura 8. Estructuras químicas y pesos moleculares (PM) de las fumonisinas.



Ácido tricarbálico (TCA)



3-hidroxipiridina (3HP)

| Fumonisina | R ₁ | R ₂ | R ₃ | R ₄ | R ₅ | R ₆ | PM |
|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------------|-----------------|-----|
| FA ₁ | TCA | TCA | OH | OH | NHCOCH ₃ | CH ₃ | 763 |
| FA ₂ | TCA | TCA | H | OH | NHCOCH ₃ | CH ₃ | 747 |
| FA ₃ | TCA | TCA | OH | H | NHCOCH ₃ | CH ₃ | 747 |
| FAK ₁ | =O | TCA | OH | OH | NHCOCH ₃ | CH ₃ | 603 |
| FB ₁ | TCA | TCA | OH | OH | NH ₂ | CH ₃ | 721 |
| FB ₂ | TCA | TCA | H | OH | NH ₂ | CH ₃ | 705 |
| FB ₃ | TCA | TCA | OH | H | NH ₂ | CH ₃ | 705 |
| FB ₄ | TCA | TCA | H | H | NH ₂ | CH ₃ | 689 |
| FC ₁ | TCA | TCA | OH | OH | NH ₂ | H | 707 |
| FP ₁ | TCA | TCA | OH | OH | 3HP | CH ₃ | 800 |
| FP ₂ | TCA | TCA | H | OH | 3HP | CH ₃ | 784 |
| FP ₃ | TCA | TCA | OH | H | 3HP | CH ₃ | 784 |
| PH1a | TCA | OH | OH | OH | NH ₂ | CH ₃ | 563 |
| PH1b | OH | TCA | OH | OH | NH ₂ | CH ₃ | 563 |

TCA=ácido tricarbálico

3HP= 3-hidroxipiridina

III.- Biosíntesis y condiciones de producción de las fumonisinas

A.- Ruta biosintética

Debido a la similitud estructural de las fumonisinas con la esfingosina se ha sugerido que la biosíntesis de estas toxinas es similar a la de los esfingolípidos, cuyo primer paso es la condensación de serina con palmitoil-CoA, catalizado por la serina palmitoiltransferasa. Estudios previos han mostrado que la alanina es incorporada directamente en el carbono C-1 y C-2 en la cadena principal de las fumonisinas, por la condensación con un acil-CoA de 18 carbonos (Fig. 9). Por lo tanto si las fumonisinas son sintetizadas de modo similar, la serina sería remplazada por la alanina, y el palmitoil-CoA por el acil-CoA (Branham y Plattner, 1993; Blackwell *et al.*, 1996; Desjardins *et al.*, 1996). Los grupos metilo son adicionados a la cadena principal de las fumonisinas en C-12 y C-16 (ambos derivados de metionina) por una S-adenosil metionina transferasa. Los pasos subsecuentes en la vía biosintética involucran la oxigenación y subsecuente esterificación, pero el orden y número de éstos no se conoce. Se ha propuesto que los homólogos menos oxigenados, FB₄, FB₃, y FB₂ son posibles precursores del homólogo más oxigenado, FB₁, pero aún no es claro si la oxigenación y metilación ocurren antes o después de la condensación con alanina (Sweeney y Dobson, 1998).

B.- Especies productoras del género *Fusarium*

Debido a la importancia toxicológica de las fumonisinas, se han realizado estudios sobre las especies productoras de estas toxinas en cultivos de maíz en donde se han probado 25 especies de 9 de las 12 secciones en que se dividen el género *Fusarium* (*Spicarioides*, *Sporotrichiella*, *Roseum*, *Artrosporiella*, *Gibbosum*, *Discolor*, *Lateritium*, *Liseola*, *Elegans*); incluyendo a las especies *F. nygamai* y *F. napiforme* las cuales no se encuentran clasificadas todavía en ninguna de las secciones descritas. Solamente se ha encontrado que los miembros de la sección *Liseola* producen fumonisinas y dentro de ésta, *F. moniliforme* y *F. proliferatum*

producen tanto FB₁ como FB₂, en cambio *F. anthophilum* produce solo FB₁. También otras especies que no pertenecen a la sección *Liseola* como lo son *F. dlamini*, *F. napiforme* y *F. nygamai*, producen fumonisinas, siendo las dos primeras productoras solamente de FB₁.

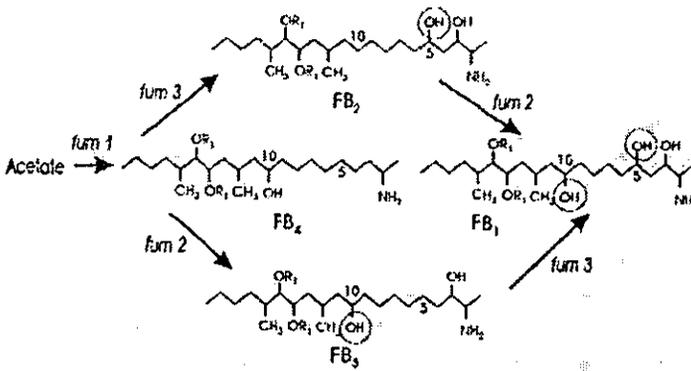


Fig.9 Modelo propuesto para la biosíntesis de las fumonisinas basado en datos genéticos (Sweeney y Dobson, 1998).

F. moniliforme y *F. proliferatum* son las dos especies productoras de fumonisinas más importantes, debido a los altos niveles que producen de estas toxinas (mayores a 500 µg/g) en maíz. *F. nygamai* es considerada una especie productora de niveles intermedios (50-500 µg/g) a altos de fumonisinas, y su principal asociación es en granos de mijo y sorgo. *F. anthophilum* y *F. dlamini* son especies de menor importancia en la producción de FB₁, además de que su incidencia en granos de cereales es escasa (Nelson *et al.*, 1991, 1992; Thiel *et al.*, 1991 a, Visconti y Doko, 1994).

C.- Relación genética de la producción de fumonisinas

La variabilidad en la producción de fumonisinas también ha sido estudiada en el teleomorfo de *G. fujikuroi*. Leslie *et al.* (1992) analizaron la producción de fumonisina B₁ en 25 de cepas *G. fujikuroi*, población de apareamiento A, aisladas de maíz asociado a degeneración leucoencefálica equina. Las 25 cepas se identificaron morfológicamente como *F. moniliforme*, en su estado asexual y todas producen fumonisina B₁ en cultivos de maíz en un rango de 422 a 5206 µg/g.

En general, las cepas pertenecientes a la población de apareamiento A producen altos niveles de fumonisina B₁ en cultivos de maíz (170 a 4100 µg/g) aún cuando no se les ha asociado con alguna micotoxicosis, y es una característica que las distingue de la población de apareamiento F las cuales producen un máximo de 3 µg/g de FB₁.

La alta frecuencia de la contaminación de fumonisinas en maíz y los altos niveles en que se encuentran, así como la amplia capacidad de producción por parte de la mayoría de las cepas de *G. fujikuroi* población de apareamiento A en maíz, sugirió que estas toxinas tenían un papel en la virulencia del hongo. Por análisis genético se identificó en la población de apareamiento A un locus designado *fum 1*, o un conjunto de *loci* estrechamente ligados, que determinan si las cepas son productoras de fumonisinas (Desjardins *et al.*, 1992). Para probar la relación entre la producción de fumonisinas y la virulencia del hongo en plántulas de maíz, se hicieron cruces entre cepas *fum 1*⁺ que tienen un alto grado de virulencia con cepas *fum 1*⁻ con un bajo grado de virulencia. Tanto cepas productoras de fumonisinas y no productoras de fumonisinas son capaces de colonizar tejido de hoja de las plántulas y causar inhibición tanto de la emergencia de estas como lo de la elongación de brotes. Los análisis genéticos mostraron que solamente los descendientes de las cepas *fum 1*⁺ (productoras de fumonisinas) presentan mayor virulencia que las cepas *fum 1*⁻ (no productoras de fumonisinas),

lo que indica que las fumonisinas contribuyen a la virulencia (Desjardins *et al.*, 1995).

Tabla 2. Especies de *Fusarium* productoras de fumonisina B₁ y B₂.

| Especie de <i>Fusarium</i> | No. de cepas estudiadas | Producción de | | Sustrato donde se aislo la cepa (s) | Referencia |
|----------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
| | | FB ₁ (µg/g) | FB ₂ (µg/g) | | |
| <i>F. moniliforme</i> | 7/7 | 85-7,100 | 10-3,000 | Maíz | Thiel <i>et al.</i> , 1991a |
| <i>F. proliferatum</i> | 1/1 | 20 | 160 | Sorgo | Thiel <i>et al.</i> , 1991a |
| | 8/15 | 587-2,936 | 65-450 | Maíz | Nelson <i>et al.</i> , 1992 |
| | 4/5 | 576-1,389 | - | Trigo | Nelson <i>et al.</i> , 1992 |
| <i>F. anthophilum</i> | 3/17 | 58-613 | - | Suelo | Nelson <i>et al.</i> , 1992 |
| <i>F. dlamini</i> | 5/9 | 42-82 | - | Suelo | Nelson <i>et al.</i> , 1992 |
| <i>F. napiforme</i> | 2/6 | 271-479 | - | Suelo | Nelson <i>et al.</i> , 1992 |
| | 1/11 | 16 | - | Sorgo | Nelson <i>et al.</i> , 1992 |
| <i>F. nygamai</i> | 5/12 | 274-7,162 | 530 | Suelo | Thiel <i>et al.</i> , 1991a |
| | 11/15 | 16-63 | - | Mijo | Nelson <i>et al.</i> , 1992 |
| | 1/1 | 3,148 | - | Sorgo | Nelson <i>et al.</i> , 1992 |

(-)No hay reportes de su producción

Algunas cepas de *G. fujikuroi* población de apareamiento A no producen FB₁, pero si producen FB₂ o FB₃, lo que sugiere que carecen de la capacidad de hidroxilar las posiciones C-10 y C-5 respectivamente (Fig. 9). El análisis genético de estas cepas muestra cambios en el locus *fum 1*, el cual regula la producción de fumonisinas. Al hacer cruza entre cepas productoras de FB₁ y cepas que tienen bloqueada la producción de esta fumonisina se identificaron tres loci, *fum 1*, *fum 2* y *fum 3* (Desjardins *et al.*, 1996). El locus *fum 1* parece estar involucrado en la regulación de la producción de las fumonisinas (Sweeny y Dobson, 1998), mientras que *fum 2* podría codificar para una hidroxilasa que actúa en C-10 convirtiendo FB₄ en FB₃ y también FB₂ en FB₁ (Desjardins, 1996; Sweeney y Dobson, 1998). Por su parte *fum 3* codifica para una hidroxilasa que actúa en C-5 y controla la conversión de FB₄ a FB₂ y FB₃ a FB₁, Fig. 11 (Desjardins, 1996; Sweeney y Dobson, 1998). Por lo tanto parece ser que un conjunto de genes ligados son los involucrados en la producción de fumonisinas y que se encuentran localizados en el cromosoma 1 (Xu y Leslie, 1996).

D.- Condiciones de producción

1.- Condiciones de producción en el campo

La producción de fumonisinas por cepas de *F. moniliforme* se ha estudiado en plantas. En dichos estudios se ha evaluado la infección de diferentes especies de *Fusarium* de la sección *Liseola* (*F. moniliforme*, *F. proliferatum* y *F. subglutinans*) y su producción de fumonisinas en mazorcas de maíz en diferentes periodos de recolección (a los 45 días, primera recolección, tiempo en que ocurre la floración; a los 60 días, segunda recolección; a los 75 días, tercera recolección; a los 90 días, cuarta recolección; y a los 105 días, quinta recolección). Donde se encontró que *F. subglutinans* fue la especie prevalente durante los 60 días después de la floración, mientras que *F. moniliforme* fue la principal especie en los periodos de recolección posteriores a los 90 días. *F. proliferatum* fue encontrado con mayor frecuencia en periodos intermedios (75-90 días después de la floración). Los niveles altos de

fumonisinás en los periodos tardíos de recolección fueron relacionados con la ocurrencia de *F. moniliforme* y *F. proliferatum*, ambos buenos productores de fumonisinas. Por otra parte, en el primer periodo de recolección, después de la floración se detectó una baja producción de fumonisinas, la cual se asoció a la predominancia de *F. subglutinans*, una especie no productora de fumonisinas. Las muestras del tercer periodo de recolección mostró que las cepas de *F. moniliforme* y *F. proliferatum* produjeron altos niveles de fumonisinas (1.5 a 4.0 mg/g), en donde las fumonisinas predominantes fueron FB₁ y FB₂ (Chulze *et al.*, 1996).

En un estudio se determinó si hay una relación que dependa del estado de desarrollo entre granos de maíz y la producción de fumonisinas por *F. moniliforme* cuando el hongo es cultivado *in vitro* en granos de maíz recolectados en los estados de desarrollo: blister (prelechoso) , milk (lechoso), dough (harinoso) y dent (dentado) (Warfield y Gilchrist, 1999). Cuando *f. moniliforme* fue cultivado en granos de maíz del estadio blister, la cantidad de fumonisinina B₁ producida por el hongo se incrementó con el estadio de desarrollo de los granos de maíz. Los mayores niveles de la toxina fueron producidas en el estadio dent, y los menores fueron producidos en el estadio blister. También se demostró que la biosíntesis de la toxina en granos de maíz está influenciada por factores que varían con el estado de desarrollo del tejido. De esta manera los cambios en la composición de los granos de maíz son la acumulación de azúcar durante el desarrollo temprano del grano alrededor de los primeros 15 días después de la fertilización (blister), y enseguida la concentración de azúcar declina conforme se acelera la deposición de almidón. Al mismo tiempo que la cantidad de almidón comienza a incrementarse rápidamente, la síntesis de proteínas es iniciada. Cuando los niveles de nitrógeno, aminoácidos y nucleótidos alcanzan su máximo alrededor del día 28 se encuentran los granos en el estadio dough, y ocurre la producción de proteínas. Por los días 30 a 46 (dent), una considerable cantidad de almidón ha sido sintetizada. El riesgo de contaminación de fumonisinas puede por lo tanto comenzar en estados tempranos del desarrollo de la mazorca e incrementarse con la madurez fisiológica del grano.

Los estudios *in vitro* se han realizado tanto en medios líquidos de composición química definida como en sustratos orgánicos sólidos. Estos estudios se han realizado con el propósito de definir las condiciones óptimas de producción de estas toxinas para su aislamiento y purificación, así como para realizar estudios de su biosíntesis.

2.- Producción de fumonisinas en medio líquido

La producción de fumonisinas en cultivo líquido ha sido reportada por Jackson y Bennett (1990), los cuales utilizaron la cepa NRRL 13616 de *Fusarium moniliforme*. y un medio de cultivo con la siguiente composición:

| | |
|---|---------|
| ◆ Glucosa | 90 g/L |
| ◆ Sulfato de amonio | 3.5 g/L |
| ◆ Fosfato monobásico | 2.0 g/L |
| ◆ Sulfato de magnesio heptahidratado | 0.3 g/L |
| ◆ Cloruro de calcio dihidratado | 0.4 g/L |
| ◆ Sulfato de manganeso monohidratado | 16 mg/L |
| ◆ Tiamina, riboflavina, niacina | 500µg/L |
| ◆ Ácido fólico, biotina, y vitamina B ₁₂ | 50µg/L |

Se ajustó el pH a 5.0 y los cultivos se inocularon con una suspensión de 5×10^6 esporas por mL, y se incubaron por 29 días a 28°C y 220 rpm. Bajo estas condiciones de cultivo, se detectó fumonisina B₁ desde el día 3 y se llegó al nivel máximo (74 µg/mL) en el último día de incubación.

Un rendimiento más alto de fumonisinas (200-300 g/mL) se obtuvo con el medio constituido por:

| | |
|------------------------|--------|
| ◆ L-asparagina | 8.0 mM |
| ◆ Cloruro de sodio | 1.7 mM |
| ◆ Fosfato de potasio | 4.4 mM |
| ◆ Sulfato de magnesio | 2.0 mM |
| ◆ Cloruro de calcio | 8.8 mM |
| ◆ Extracto de levadura | 0.05% |
| ◆ Glucosa | 0.24 M |
| ◆ Ácido málico | 5.0 mM |

pH de 3.0

Se inoculó con 5×10^3 esporas/mL de *Fusarium moniliforme* inoculando y se incubó en obscuridad en un rango de temperatura de 25-28°C en agitación a 200-220 rpm por 21 días (B. Branham sin publicar).

3.- Producción de fumonisinas en medio sólido

Los primeros estudios *in vitro* sobre la producción de fumonisinas fueron realizados en granos de maíz esterilizados, en donde se evaluó la influencia de la temperatura (20, 25 y 30°C) y el periodo de incubación, manteniendo fija la actividad de agua ($a_w=1$). Bajo estas condiciones se observa que la producción de FB₁ comienza después de dos semanas durante la fase de crecimiento activo y continua incrementándose en la fase estacionaria para disminuir después de 13 semanas. El rango de producción de FB₁ fue mayor a 25°C, alcanzando el nivel máximo (14.6 g/Kg) en la semana 7 (Alberts *et al.*, 1990).

Las condiciones óptimas de producción de fumonisinas (a_w y temperatura), así como la influencia de otros co-colonizadores en granos de maíz, se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Condiciones óptimas de producción de fumonisina B₁ por *F. moniliforme* y *F. proliferatum*, tanto cuando colonizan sólo granos de maíz, como cuando co-colonizan con otros hongos.

| | a_w | Temperatura (°C) | A.f. | A.o. | A.n. | P.i. | F.g. |
|------------------------|------------|------------------|------|------|------|------|------|
| <i>F. moniliforme</i> | 0.956-0.97 | 30 | - | - | - | - | - |
| | 0.98 | 15 a 25 | | M | M | | |
| | 0.95 | 25 | | M | | | |
| | 0.93-0.95 | 15 | M | | | | |
| | 0.98 | 25 | M | | | M | |
| | 0.95-0.98 | 25 | | | | | M |
| <i>F. proliferatum</i> | 0.956-0.97 | 30 | - | - | - | - | - |
| | 0.98 | 15 | | M | M | | M |
| | 0.98 | 15 a 25 | M | | | M | |

(-)=producción de la toxina del hongo sólo

M= mayor producción de la toxina cuando co-coloniza con otros hongos

A.f.= *Aspergillus flavus* A.o.= *A. ochraceus* A.n.= *A. niger*

P.i.= *Penicillium implicatum* F.g.= *F. graminearum*

Es de particular interés señalar que con frecuencia niveles altos de FB₁ son producidos por cepas de *F. moniliforme* con altas tasas de crecimiento, cuyo parámetro se refleja en la cantidad de ergosterol (mayor a 400 µg/g). Sin embargo, esto no necesariamente implica que haya abundante producción de FB₁, debido a la variabilidad de este carácter, así como, un bajo contenido de ergosterol no necesariamente indica ausencia de la toxina (Melcion *et al.*, 1997).

Además de los estudios de la producción de FB₁ y FB₂, también se ha evaluó la composición del tipo de fumonisinas producidas por cepas de *F. moniliforme*, *F. proliferatum* y *F. nygamai* en granos de maíz esterilizados, e incubando a 25°C por 4 semanas (Musser *et al.*, 1997). Las fumonisinas de las series B₁₋₃ y A₁₋₂ fueron las fumonisinas más abundantes. En cambio otras fumonisinas como FC₁ y FAK₁ fueron producidas consistentemente en niveles bajos (<10%). La serie P₁₋₃ fue el único grupo de fumonisinas que mostró una variación significativa, en su producción (de menor a 1 a 36 µg/g). Sin embargo, cuando se cultivan cepas de *F. moniliforme* en condiciones limitadas de oxígeno por 40 días se producen niveles detectables de la serie P (menor a 50 hasta 1272 µg/g de FP₁). Durante el período anaeróbico, los niveles de FB₁ y el de otras fumonsinas permanecieron sin cambio. En un experimento alterno en donde fueron incubados cultivos de maíz en condiciones aeróbicas y posteriormente en condiciones anaeróbicas, los niveles de fumonisinas FB₁, FB₂ y FB₃ se incrementaron con el tiempo bajo condiciones aeróbicas pero no continuaron aumentando bajo condiciones anaeróbicas.

Una estrategia para reducir el crecimiento de hongos y su producción de toxinas durante el almacenamiento de granos es el tratamiento con conservadores como el ácido sórbico y propiónico y sus respectivas sales. Marín *et al.* (1999 b) evaluaron el efecto del ácido propiónico, su sal sódica y una formulación comercial (ácido propiónico, propionato de amonio, propionato de sodio) en concentraciones de 0.03, 0.05 y 0.07% sobre la producción de FB₁ por cepas de *F. moniliforme* y *F. proliferatum* en granos de maíz irradiados. Estas pruebas se realizaron a diferentes actividades de agua (a_w , 0.93,0.95,0.98) y a dos temperaturas (15 y 25°C). El efecto de los conservadores, en particular del ácido propiónico fue más notable al ser evaluado en *F. proliferatum*. La cantidad de fumonisina producida se redujo hasta en un 90% al emplear 0.07% de ácido propiónico. En cambio la máxima reducción que se obtuvo con *F. moniliforme* fue del 60%, pero con una alta variabilidad en los resultados obtenidos.

IV.- Actividad biológica de las fumonisinas

A.- Efecto en la síntesis de esfingolípidos

La determinación de la estructura química de la fumonisina B₁ constituyó el descubrimiento de una nueva clase de toxinas con un modo de acción único. El mecanismo de acción a nivel molecular de la fumonisina B₁ se investigó a partir de la semejanza estructural que tiene esta molécula con la esfingosina (Fig. 10), la cual es una base esfingoidea precursora de esfingolípidos complejos como la ceramida y la esfingomielina (Murray *et al.*, 1994; Díaz y Hicks, 1995).

Los esfingolípidos juegan un papel importante en un cierto número de funciones celulares, incluyendo comunicación célula-célula, receptores de factores de crecimiento, desarrollo, diferenciación y transformación de células (Merril *et al.*, 1996).

El efecto de la FB₁ sobre la biosíntesis de los esfingolípidos se ha estudiado en hepatocitos de rata en cultivo, donde se demostró que ésta toxina impide la formación de esfingosina, inhibiendo a la ceramida sintasa (N-esfinganina-aciltransferasa), la cual cataliza la acilación de la esfinganina para generar ceramida. Cuando los hepatocitos fueron incubados con una concentración de FB₁ de 1 μM por 4 días se encontró un aumento de la cantidad de esfinganina. Esto fue acompañado por una reducción en la cantidad de esfingosina (de 52 pmol/placa comparado con 233 pmol/placa del control), y una disminución del nivel de esfingolípidos totales (de 4.6 nmol/placa a 2.1 nmol/placa).

Al ser inhibida la ceramida sintasa, tampoco puede ocurrir la acilación de la esfingosina generada por hidrólisis de esfingolípidos complejos (Wang *et al.*, 1991).

Las fumonisinas de la serie B (FB₁ y FB₂) hasta ahora han mostrado inhibir la ceramida sintetasa en concentraciones bajas o sub-micromolares, por ejemplo, con una concentración de 0.1 μM de FB₁ se inhibe el 50% la actividad de la ceramida sintasa (IC₅₀) en hepatocitos de rata (Wang *et al.*, 1991). La actividad de la fumonisina sobre esta enzima depende de un grupo amino libre, pues la

fumonisina A₁ que está N-acetilada apenas inhibe en menos del 2% a la ceramida sintasa en una concentración de 10 μ M; por tanto, la acetilación parece en reducir la potencia por más de 50 veces (Merril *et al.*, 1996).

La sensibilidad a la FB₁ varía según el tipo celular mientras que en hepatocitos de rata se observa una inhibición en la biosíntesis de los esfingolípidos (en un 40%) con una IC₅₀ de 0.1 μ M en un tiempo de exposición de 4 días, en las células renales de cerdo (LLC-PK₁), se logró con IC₅₀ con FB₁ a 35 μ M y se causó una disminución en la proliferación celular. Dosis mayores (>70 μ M) matan las células renales después de un tiempo de exposición de 3 días (Norred *et al.*, 1992, 1999).

El efecto de la fumonisina B₁ sobre el metabolismo de esfingolípidos también se ha determinado *in vivo* cuando los animales son alimentados con la toxina pues se han realizado los niveles de esfinganina en el suero de estos animales. En caballos ponys alimentados con una dieta que contenía 44 ppm de FB₁ se encontró un incremento de 2.7 veces en la concentración de esfinganina en el día 2, de 4.5 veces por el día 7, y de 13 veces en el día 10. Además, también en el día 10 hubo un incremento de 7 veces en el nivel de la actividad de las transaminasas en suero, lo cual indica que los equinos tuvieron un significativo daño hepatocelular. Los efectos de la FB₁ sobre el metabolismo de esfingolípidos es reversible ya que cuando los ponys dejaron de comer el alimento contaminado la cantidad de esfinganina en suero regreso a sus valores normales y al reanudar la dieta con alimento contaminado, hubo otro incremento en los niveles plasmáticos de la esfinganina, además de que los animales continuaron con los síntomas clínicos de la degeneración leucoencefálica. De esta manera se ha propuesto que el análisis de los niveles plasmáticos de esfinganina en suero puede ser empleados para diagnosticar si ha habido consumo de alimento contaminado con fumonisinas (Merril *et al.*, 1996).

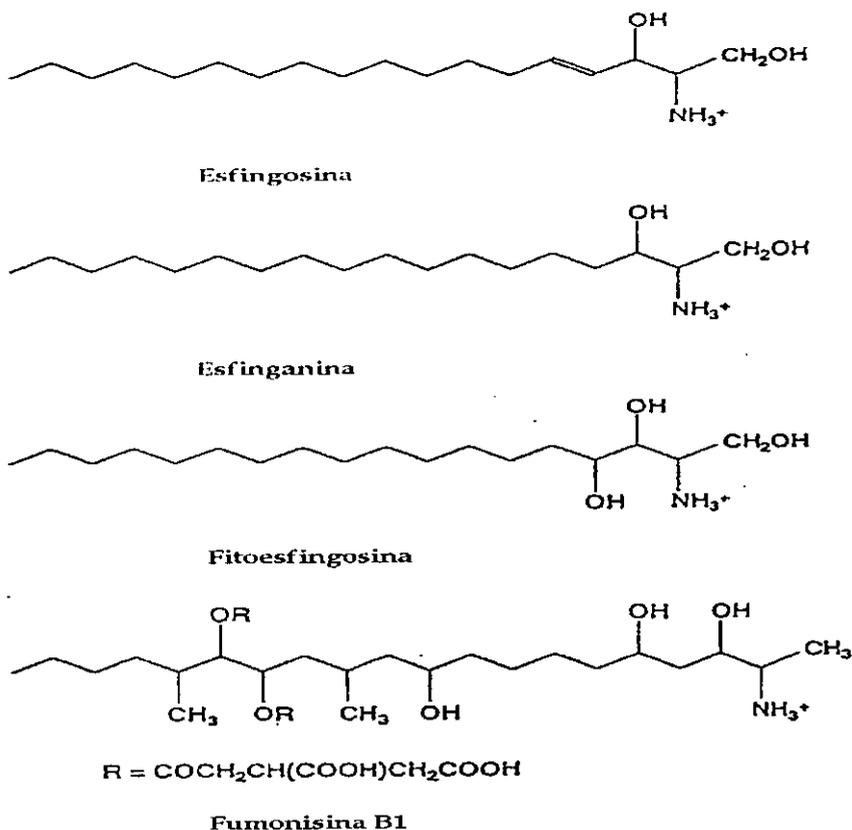


Fig. 10 Estructuras de bases esfingoideas y fumonisina B₁

Dado el mecanismo de acción molecular de las fumonisinas se han propuesto dos posibles explicaciones para la muerte celular observada:

a) La esfinganina libre y otros metabolitos como la esfinganina-1-fosfato que se acumulan, tienen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento y además es citotóxico para las células conduciendo así a la muerte celular.

b) La inhibición de la ceramida sintasa ocasiona la acumulación de la esfinganina y depleción de ceramida y otros esfingolípidos complejos desbalanceando así la concentración de estas importantes moléculas bioactivas (Merril *et al.*, 1996).

B.- Efectos tóxicos en animales

La contaminación de cereales con toxinas producidas por el hongo *F. moniliforme* es un problema serio en casi todos los países y en muchos se ha asociado la presencia de la toxina con la etiología de diferentes enfermedades en animales (Nelson *et al.*, 1991).

Degeneración leucoencefálica equina

Esta enfermedad neurotóxica de caballos, burros y mulas fue lo que causó la búsqueda e identificación de las fumonisinas. La degeneración leucoencefálica equina se caracteriza por licuefacción de la materia blanca en uno o en ambos hemisferios cerebrales. Entre los síntomas se encuentran: pérdida del apetito, cojera, ataxia (perturbación de las funciones del sistema nervioso), parálisis facial y oral, colocación de la cabeza a la pared, posiblemente dolores intensos, deambulación, somnolencia, hemorragias internas, edema facial, ictericia, prurito, equimosis que son mancha líquidas, negras o amarillas de los órganos internos y la piel, petequias en membranas internas, (Tay, 1995). Los brotes de esta enfermedad se han reportado esporádicamente en muchos países incluyendo Argentina, Brasil, China, Egipto, Nueva Caledonia, Sudáfrica, Estados Unidos y México (Marasas *et al.*, 1984; Pittet *et al.*, 1992; Rosiles *et al.*, 1998).

La mortalidad causada por la degeneración leucoencefálica en equinos se ha conocido desde 1850 en las regiones donde se cultiva maíz en los Estados Unidos y en donde se han reportado la muerte de cientos de caballos durante el siglo XIX en estado de Maryland y en algunos estados en el mediooeste durante la 1930. En 1902 los síntomas de esta enfermedad fueron reproducidos experimentalmente en caballos alimentados con maíz enmohecido y contaminado de modo natural en los Estados Unidos. De este estudio se obtiene que la degeneración leucoencefálica equina es una micotoxicosis causada por un hongo que fue identificado como *F. moniliforme* en 1971. Esto fue más tarde confirmado en Sudáfrica por la inducción

de lesiones típicas en cuatro caballos alimentados con un cultivo de tres cepas locales de *F. moniliforme* de maíz enmohecido (Marasas *et al.*, 1984).

Debido al conocimiento de que cultivos de la cepa MRC 826 de *F. moniliforme* causaban la degeneración leucoencefálica en equinos, y después del aislamiento y caracterización de FB₁ y FB₂ producidas por esta cepa Marasas *et al.* en 1988 indujeron la enfermedad en un caballo el cual fue inyectado 7 veces por vía intravenosa con una dosis de 0.125 mg de FB₁ al 92% por Kg de peso corporal por 9 días. En el día 8 del experimento, el caballo desarrolló los signos clínicos que incluían nerviosismo seguido por apatía, temblores, ataxia, parálisis facial y oral, así como incapacidad para ingerir alimentos. El caballo fue sacrificado en el día 10, donde la autopsia reveló lesiones típicas en cerebro descritas para esta enfermedad. En un experimento posterior, la degeneración leucoencefálica equina fue inducida por la administración oral de fumonisina B₁ en 2 caballos por un periodo de 35 días. Las dosis aplicadas variaron entre 1.25 y 4 mg/Kg de peso corporal. Los dos caballos desarrollaron los síntomas de apatía, cambios en el temperamento, pérdida de la coordinación, parálisis facial y oral entre los días 22 a 27. Las lesiones características de la degeneración leucoencefálica equina fueron presentes en los cerebros de ambos caballos (Kellerman *et al.*, 1990). Estos dos últimos experimentos apoyaron fuertemente la hipótesis de que la fumonisina B₁ puede causar la degeneración leucoencefálica en caballos.

En 1989 de los casos recibidos por el Laboratorio de Servicio Veterinario Nacional de los Estados Unidos de América de brotes de la degeneración leucoencefálica equina se compararon los niveles de fumonisina B₁ en alimentos que contenían maíz y/o maíz triturado de 36 de los casos confirmados de la degeneración leucoencefálica equina con niveles en alimentos no asociados con la enfermedad. En este estudio se concluyó que las concentraciones mayores a 10 ppm de FB₁ en alimentos para caballos podrían involucrarse con la enfermedad. (Ross *et al.*, 1992).

Edema pulmonar porcino

En 1981 el edema pulmonar porcino fue relacionado con el consumo de maíz contaminado con *F. moniliforme*. En 1989 el alimento de consumo animal que contenía maíz y/o maíz triturado fue asociado con la muerte de cerdos adultos en el estado de Georgia, Estados Unidos. Las muertes ocurrieron de forma simultánea en 2 granjas, después de haber ingerido el alimento contaminado con *F. moniliforme*. A cuatro de los cerdos se les practicó la necropsia, en la cual se observó edema pulmonar e hidrotórax masivo, cuyas cavidades estaban llenas de líquido amarillo oro (Nelson *et al.*, 1993). En 1990, posterior al descubrimiento de las fumonisinas Colvin y Harrison reprodujeron la enfermedad por vía intravenosa con una dosis de 0.4 mg de FB₁/kg de peso corporal por 4 días. En un estudio similar investigadores de Iowa, Estados Unidos reprodujeron también el síndrome del edema pulmonar porcino en 4 de 6 cerdos alimentados con maíz que se había asociado a esta enfermedad ocurrida naturalmente y que contenía 92 ppm de FB₁. De manera general los cerdos presentaron edema pulmonar, hidrotórax y muerte posterior (Ross *et al.*, 1992). Las muestras de los alimentos involucrados con la enfermedad provenientes de los estados de Georgia, Iowa e Illinois fueron recolectadas para su valoración micológica por el Laboratorio de Servicio Veterinario Nacional, de donde se aisló *F. moniliforme* en todas las muestras y con menor frecuencia fue aislado *F. proliferatum*. Las cepas aisladas de *F. moniliforme* producían fumonisina B₁ en cantidades de 990 a 2,350 mg/g y de fumonisina B₂ 120 a 350 µg/g cuando se inoculó el hongo granos de maíz esterilizados. La cepa de *F. proliferatum* que se aisló produjo 1,670 µg/g de FB₁ y 150µg/g de FB₂ *in vitro*. Los datos obtenidos hasta la fecha son suficiente evidencia para proponer a la FB₁ como la causa del edema pulmonar porcino (Nelson *et al.*, 1993).

Efecto hepatotóxico y nefrotóxico en ratas

En 1981 se aislaron de muestras de maíz de Transkei, Sudáfrica, 21 cepas de *F. moniliforme*, las cuales no producían moniliformina pero la mayoría sí producía ciertos compuestos que fueron tóxicos en patos, causando la muerte de éstos. Además las ratas alimentadas con maíz contaminado con estas cepas, presentaron cirrosis e hiperplasia nodular en hígado. En un estudio posterior, ratas fueron alimentadas con maíz contaminado con la cepa MRC826 de *F. moniliforme* en una concentración de 8% en la dieta y éstas presentaron hepatotoxicidad y 100% de mortalidad. Las lesiones en el hígado de las ratas que murieron fueron caracterizadas por cirrosis e hiperplasia nodular. En menores concentraciones en la dieta, el material de cultivo fue hepatocarcinogénico y causó carcinoma hepatocelular y carcinoma ductular en el hígado. La adenofibrosis también fue observada al mismo tiempo que el carcinoma hepatocelular.

Estos estudios aunado con el descubrimiento de las fumonisinas promovieron el estudio de la FB₁ como agente causal de los efectos hepatotóxicos y hepatocarcinogénicos presentados en ratas (Gelderblom et al., 1988).

En otro estudio, en 1991 en el que a un grupo de 25 ratas alimentadas con una dieta basada en maíz adicionada fumonisina B₁ al 90% (administrada en una dosis de 50 mg/Kg de peso corporal), por un período de 26 meses (un grupo control recibió la misma dieta pero sin FB₁) se observó que las ratas alimentadas con FB₁ que murieron durante los primeros 18 meses desarrollaron cirrosis micro y macronodulares y el resto que fueron sacrificadas o murieron entre los 18 a 26 meses, desarrollaron carcinoma hepatocelular. La metástasis a corazón, pulmón, o riñones fue observada en cuatro de las ratas con carcinoma hepatocelular. No se observaron cambios neoplásicos en esófago, corazón o estómago. Estos hallazgos concluyeron que FB₁ producida por *F. moniliforme* es responsable de los efectos hepatocarcinogénicos y hepatotóxicos en ratas (Nelson et al. 1993).

En otro estudio, Hendrich et al. (1993) alimentó a varios grupos de ratas macho por 30 días con diferentes dietas, maíz molido que contenía dextrosa 70 g/Kg de maíz (dieta control); maíz, fermentado con *F. proliferatum* (FP) con dextrosa 70g/Kg, sin suplementar y suplementado (cantidades por Kg de maíz: caseína, 60 g; tiamina, 0.002 g; riboflavina, 0.005 g; piridoxina, 0.002 g; niacina, 0.010 g; carbonato de calcio, 1.6 g; cloruro de sodio, 1.0 g; metionina, 3.0 g; colina, 2.0 g); maíz fermentado con *F. proliferatum* (NFP) y nixtamalizado con dextrosa 70g/kg de maíz, sin suplementar y suplementado. La dieta con maíz fermentado con *F. proliferatum* contenía 45-48 mg/Kg de FB₁, y no contenía la forma hidrolizada de FB₁ (HFB₁). Pequeñas cantidades de FB₂ y FB₃ fueron encontradas en ésta dieta. Solamente 0.1-0.3 mg/Kg de FB₁ fue detectado en la dieta con maíz sin inocular. La dieta con maíz fermentado con *F. proliferatum* y nixtamalizado contenía 0-0.8 mg/kg de FB₁ y 8-11 mg/Kg de HFB₁. Después de la alimentación por 30 días con las dietas descritas, las ratas fueron sacrificadas y se analizó en plasma la cantidad de glutamato-piruvato transaminasa (GTP) y colesterol. Además se determinó el peso corporal, peso del hígado así como la presencia de neoplasias en este órgano. En las ratas alimentadas con una dieta de maíz nixtamalizado y sin nixtamalizar suplementado se observó un incremento en el peso corporal. El peso corporal del grupo de ratas alimentadas con maíz FP fue menor. El peso del hígado fue incrementado significativamente en las ratas alimentadas con las dietas con maíz FP y suplementado y en maíz NFP y suplementado. Las ratas con una dieta de maíz fermentado con *F. proliferatum* sin suplementar no mostraron incremento del peso del hígado. En todas las ratas alimentadas con maíz FP la actividad de GPT fue más alta que en el resto de los grupos. El colesterol en plasma fue incrementado en las ratas alimentadas con las dietas maíz FP y maíz NFP suplementado exhibiendo en la necropsia adenomas hepatocelulares, mientras que las ratas con una alimentación con maíz NFP sin suplementar presentaron pocos adenomas. Por lo que se deduce que la presencia de FB₁ en la dieta de ratas causan efectos

hepatocarcinogénicos, a pesar del tratamiento alcalino que se le da al maíz en la nixtamalización, ya que en éste se produce su forma hidrolizada, HFB₁.

Para determinar el efecto hepato y nefrotóxico de las fumonisinas B₂ y B₃ en la alimentación de ratas, Voss *et al.* (1998) alimentó a diferentes grupos de ratas macho con una dieta que contenía ya sea FB₂ (DFB2) ó FB₃ (DFB3) producidas por una cepa de *F. moniliforme* no productora de FB₁ en tres niveles: bajo (4.6-6.7 ppm), medio (32-49 ppm) y alto (219-295 ppm). Además de utilizar un grupo que se les alimentó con una dieta que contenía fumonisinas totales (DFB1) en las siguientes concentraciones: 6.9 ppm, dosis baja; 53 ppm, dosis media; y 303 ppm, dosis alta (FB₁:FB₂:FB₃=1.0:0.38:0.15) de una cepa de *F. moniliforme* productora de FB₁, y una dieta sin fumonisinas. Este estudio se realizó en dos fases, una fase de exposición donde se les alimentó a las ratas con las dietas que contenían fumonisinas, y una fase de recuperación donde se les daba una dieta libre de fumonisinas, con un período de duración de 3 semanas cada una. A lo largo del ensayo se determinaron diversos parámetros como peso corporal y de órganos (hígado y riñón), medición de hepatotoxicidad (aumento de actividades enzimáticas en suero, aumento de colesterol, triglicéridos), disfunción renal (aumento de volumen de orina, aumento de creatinina en suero y concentración de nitrógeno ureico en sangre (BUN) y la disminución de la concentración total de dióxido de carbono en suero), se concluyó que la severidad de la toxicidad de las fumonisinas fue FB₁>FB₂>FB₃. La variación de estos parámetros se presenta en la Tabla 4.

El peso corporal disminuyó el período de exposición en mayor grado en las dosis altas de DFB1, DFB2 y DFB3 con respecto al control. Los efectos bioquímicos en suero fueron observados en los animales tratados con las dosis altas de las tres toxinas y con las dosis intermedias de DFB1. Las actividades de la alanina aminotransferasa y fosfatasa alcalina aumentaron en los tres grupos en las dosis altas, DFB1, DFB2 y DFB3, mientras que la lactato deshidrogenasa fue incrementada solamente en el grupo DFB1 en la dosis alta, con respecto al control.

La concentración de colesterol del grupo DFB1 y en menor grado del grupo DFB2 de dosis alta fue mayor con respecto al control. De igual modo los triglicéridos fueron aumentados en las dosis altas de DFB1 y DFB3 y el BUN fue elevado en los grupos de dosis alta y media de DFB1 con respecto al control. La creatinina se incremento y el CO₂ total disminuyo en los grupos de dosis alta de DFB1 y DFB2, con respecto al control. En cuanto a la producción de orina fue mayor en los grupos de dosis alta (mL/rata) y media (11.5 mL/rata) de DFB1 durante la primer semana, después de la semana 3 fue incrementada en los grupos de dosis alta en DFB1 y DFB2 con respecto al control.

En relación con los pesos de los órganos afectados, el peso del hígado y del riñón disminuyeron de forma general en los tres grupos de dosis altas, DFB1, DFB2 y DFB3 con respecto al control; y además se presento apoptosis en hepatocitos y en el epitelio tubular del riñón. Las fumonisinas FB1, FB2 y FB3 afectan el balance de los niveles de los esfingolípidos, causando un incremento en la relación de esfingalina/esfingosina (So/Sa) en el hígado y en el riñón, en las dosis altas de los tres grupos con respecto al control.

El efecto de las fumonisinas es reversible ya que durante el período de recuperación el peso corporal de los animales y los tejidos de estos volvieron a valores comparables con los controles. Asimismo la relación So/Sa, fue similar a los presentado en el control.

C.- Efecto citotóxico y fitotóxico de las fumonisinas de la serie C, FP₁ y FB₁.

Las fumonisinas de las series C y P no han sido probadas en animales debido a que se obtienen en muy bajas cantidades, por lo que su efecto citotóxico se ha probado en líneas celulares, y el efecto fitotóxico se ha evaluado en cultivos de lirio acuático (*Lemna pausicotata* L.), comparando ambos efectos con los producidos por la FB₁. El estudio se realizó en tres líneas celulares, la H4TG que se derivó de en células de hepatoma de rata, la MDCK de células de riñón canino y en fibroblastos

murinos NIH, para determinar la concentración de la toxinas (FC₁₋₄, FP₁ y FB₁) la cual causa un 50% de la reducción del número de células (IC₅₀) después de 5 días de exposición. Para las líneas celulares H4TG y MDCK resultaron citotóxicas la FC₁ y FC₂, presentando una citotoxicidad similar a la FB₁, mientras que la FC₃ y FC₄ y FP₁ tuvieron una citotoxicidad menor. La línea celular NIH3T3 fue la más resistente al efecto citotóxico de las toxinas probadas (Tabla 5).

La fitotoxicidad se determinó por el efecto de las fumonisinas en el crecimiento y en el contenido de clorofila en los cultivos de la planta acuática, *Lemna pausicotata* L. (Tabla 6), por un periodo de 72 h empleando una concentración de 1 µM de FC₁₋₄ y FB₁, mientras que la FP₁ se probó en concentraciones mayores (5, 10, 50 y 100 µM).

Después de las 72 h, las fumonisinas C₁ y C₂ causaron una mayor inhibición del crecimiento de los cultivos de la planta acuática que la FC₃ y FC₄, y todas fueron menos tóxicas que FB₁ que inhibió casi completamente el crecimiento. En cambio, la FP₁ mostró menor fitotoxicidad, alcanzando solamente un 50% de inhibición con una concentración de 65 µM. En relación con la reducción del contenido de clorofila, el efecto también fue mayor por la FC₁ y FC₂, siendo similar al presentado por la FB₁. Con respecto a la FP₁ se obtuvo solo un 40% de reducción con una concentración de 100 µM (Abbas *et al.*, 1998).

Tabla 4. Parámetros afectados por la administración de FB₁, FB₂ y FB₃ en dietas proporcionadas a ratas en un periodo de 3 semanas.

| Parámetro | Control | DFB1 | DFB2 | DFB3 |
|--------------------------------------|---------|------------------|------------|------------|
| Peso corporal (g) | 287.5 | DA (229.1) | DA (270.8) | DA (283.3) |
| Efectos bioquímicos | | | | |
| Alanina aminotransferasa (IU/L) | 44 | DA (164) | | DA (62) |
| Fosfatasa alcalina (IU/L) | 195 | DA (851) | DA (329) | DA (236) |
| Lactato deshidrogenasa (IU/L) | 377 | DA (553) | | |
| Colesterol (mg/dL) | 70 | DA (239) | DA (153) | |
| Triglicéridos (mg/dL) | 17 | DA (64) | | DA (31) |
| Creatinina (md/dL) | 0.43 | DA (0.64) | DA (0.52) | |
| BUN (mg/dL) | 18 | DA (22), DM (22) | | |
| CO ₂ total (mmol/L) | 24 | DA (19) | DA (21) | |
| Efecto en órganos | | | | |
| Producción de orina (mL/rata) | 6.0 | DA (18.9) | DA (12.9) | |
| Peso de hígado (g) | 11.0 | DA (7.77) | DA (7.96) | DA (9.58) |
| Peso de riñón (g) | 2.49 | DA (1.56) | DA (1.84) | DA (2.09) |
| Relación de esfingolípidos Sa/So en: | | | | |
| Hígado | 0.5 | DA (11.0) | DA (7.1) | DA (4.3) |
| Riñón | 1.0 | DA (3.0) | DA (2.6) | DA (2.2) |

DA= dosis alta DM= dosis media Sa/So= relación esfingalina/esfingosina

Tabla 5. Citotoxicidad de las fumonisinas FP₁, FB₁ y de la serie C en líneas celulares de mamíferos.

| Fumonisina | IC ₅₀ (μM) | | |
|-----------------|-----------------------|-------|--------|
| | H4TG | MDCK | NIH3T3 |
| FC ₁ | 16.5 | 38.3 | >200 |
| FC ₂ | 15.0 | 64.3 | >200 |
| FC ₃ | 49.4 | 316.0 | >200 |
| FC ₄ | 27.2 | 154.9 | >200 |
| FP ₁ | 183.8 | >200 | >200 |
| FB ₁ | 11.8 | 58.0 | >200 |

Tabla 6. Fitotoxicidad de las fumonisinas la serie C, FB₁ y FP₁ en cultivos de *Lemna paucicotata* L.

| Fumonisina | Concentración (μM) | Inhibición de crecimiento (%) | Reducción del contenido de clorofila (%) |
|-----------------|--------------------|-------------------------------|--|
| FC ₁ | 1 | 34.5 | 61.0 |
| FC ₂ | 1 | 54.0 | 55.0 |
| FC ₃ | 1 | 17.7 | 37.0 |
| FC ₄ | 1 | 26.0 | 37.0 |
| FB ₁ | 1 | 95.4 | 55.0 |
| FP ₁ | 5 | 11.0 | 20.0 |
| | 10 | 29.0 | 22.0 |
| | 50 | 49.0 | 37.0 |
| | 100 | 48.1 | 40.0 |

D.- Efecto en la promoción de cáncer

En los estudios originales que reportan el aislamiento de las fumonisinas se probó la actividad promotora de cáncer hepático en ratas de las distintas fracciones del cultivo de la cepa MRC 826 de *F. moniliforme* (Gelderblom *et al.*, 1988). La actividad de promoción de cáncer de la fumonisina B1 fue asociada con la pérdida de peso en las ratas y la elevación de gama-glutamyl-transpeptidasa-positiva (GGT⁺) que es un marcador de lesiones hepáticas preneoplásicas durante la carcinogénesis ocasionada por compuestos químicos.

El consumo de maíz contaminado con cepas de *F. moniliforme* productoras de fumonisinas se ha asociado con altos índices de cáncer de esófago en ciertas partes del mundo, particularmente en Transkei, Sudáfrica, el noroeste de Italia y en las provincias de Honan, Hebei y Shanxi al norte de China. (Bullerman, 1997; Nair, 1998).

El cáncer de esófago en humanos tiene una incidencia mundial muy variada: en China, se han reportado tasas de mortalidad de hasta 436 por 100,000 varones y 22.5 por 100,000 mujeres en la provincia de Honan, mientras que en la provincia de Yunan fueron de sólo 1.4/100,000 y 0.7/100,000 hombres y mujeres. Además en Sudáfrica la incidencia en varones negros de 35 a 64 años de edad es de 246 por 100,000, con respecto a una tasa de sólo 3 por 100,000 en África Occidental. En los Estados Unidos el carcinoma de esófago es un proceso maligno poco frecuente que representa sólo el 1% de los carcinomas. En Asia hay un "cinturón de cáncer" de esófago definido, que se extiende desde el norte de Irán y el mar Caspio a través de Asia Central hasta Mongolia y el norte de China. Otros países donde hay de alta incidencia son Francia, Suiza, Finlandia, Islandia y Puerto Rico. En cambio, se observan tasas bajas de incidencia en Inglaterra, Escandinavia y Australia (Cameron, 1995).

Entre los factores de riesgo del cáncer esofágico se encuentran: a) el consumo de alcohol, en especial cuando se trata de bebidas elaboradas en el hogar a base de maíz; b) el consumo de compuestos de nitrosamina en alimentos, se ha asociado con cáncer de esófago en el condado de Linhsien, provincia de Honan, China; c) el consumo de las hojas del arbusto *Crotón flaveus*, ingeridas o prepradas en té; d) el consumo de nueces (frutos de la areca) en la India (Cameron, 1995).

Sydenham *et al.*, 1990 reportaron la relación entre la presencia de *F. moniliforme* y la producción de fumonisinas en muestras de maíz sano y visiblemente enmohecido en regiones de baja (Bizana) y alta (Kentani) incidencia de cáncer esofágico en Transkei, Sudáfrica. Se encontró que en la región de alta incidencia de este tipo de cáncer hubo mayores niveles de FB₁ y FB₂, en el maíz contaminado por *F. moniliforme* (46.9 y 18.9 µg/g, respectivamente) que en el maíz sano (7.9 y 2.25 µg/g, respectivamente), en comparación en la región de baja incidencia (maíz sano, 0.55 µg/g de FB₁ y 0.15 µg/g de FB₂; maíz enmohecido, 18.9 µg/g y 6.75 de FB₂).

En un estudio posterior Yoshizawa *et al.* (1994) de modo similar comparó la incidencia de las fumonisinas en muestras de maíz del condado de Lixian, área de alta incidencia de cáncer esofágico, con muestras del condado de Shangqiu, área de baja incidencia de cáncer de esófago en China. Los niveles máximos de fumonisinas en el condado de Lixian fueron de 2,964 ng/g de FB₁ y de 550 ng/g de FB₂, mientras que en el condado de Shangqiu fueron 1,732 ng/g de FB₁ y 447 ng/g de FB₂. La incidencia de las fumonisinas fue también mayor en área de alta incidencia.

También se ha estudiado la presencia de FB₁ y otras micotoxinas (aflatoxinas y tricotecenos totales) en forma simultánea en maíz recolectado de regiones donde hay altos índices de cáncer de esófago, así como también si la FB₁ y las nitrosaminas podrían ser producidas simultáneamente por *F. moniliforme*, cuando crece en presencia de nitrito de sodio (5.8mM) y aminos primarias como

isobutilamina y benzilamina (1.7 mM). Se recolectaron 31 muestras de maíz en los condados de Cixian y Lixian, China, donde se encontraron niveles altos de FB₁ (18-155 ppm, 74 ppm promedio) en 16 de las muestras que mostraban contaminación visible por *F. moniliforme*. Los niveles de FB₁ fueron bajos (20-60 ppm, 35.3 ppm promedio) en 15 muestras donde no había contaminación fúngica visible. Los niveles de las aflatoxinas fueron en general bajos (1-38.4 ppb, 8.61 ppb promedio), mientras los altos niveles de tricotecenos totales tipo A si se encontraron en las muestras en concentraciones de 139 a 2,030 ppb. La concentración de los tricotecenos totales tipo B en 15 muestras de maíz fue en un rango de 470 a 5,826 ppb. Cinco cepas de *F. moniliforme* que fueron aisladas de las muestras de maíz tuvieron la capacidad de formar nitrosaminas, de donde se obtuvieron de 5 a 16 µg por frasco de aminas secundarias y nitrosaminas (Chu y Li, 1994).

Los investigadores chinos han encontrado que la presencia de *Fusarium moniliforme*, así como de fumonisinas y nitrosaminas en la dieta son entre los más importantes factores de riesgo de cáncer de esófago. Chu y Li encontraron que *F. moniliforme* además de producir grandes cantidades de fumonisinas también es capaz de formar nitrosaminas, sugiriendo que la presencia de FB₁, nitrosaminas y otras micotoxinas carcinogénicas tienen un papel importante en la carcinogénesis (Chu y Li, 1994).

Las evidencias de la carcinogenicidad de la fumonisina B₁ han sido evaluadas por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer que la clasificó en el grupo 2B (que incluyen a los compuestos posiblemente carcinogénicos para humanos). Sin embargo, hay que notar que ésta agencia encontró que la información sobre FB₁ todavía es limitada, y que la información sobre la FB₂ es inadecuada (Nair, 1998).

V.- Incidencia y niveles de fumonisinas en productos agrícolas y en alimentos destinados al consumo humano y animal

A.- Incidencia en productos agrícolas

La distribución de la concentración por fumonisinas ha sido reportada en todo el mundo, encontrándose tanto en productos agrícolas (maíz, trigo, cebada, sorgo), como en productos procesados para consumo animal y humano, principalmente en aquellos derivados de maíz. En general, en productos agrícolas y alimentos para consumo animal se detectan mayores niveles de fumonisinas que en productos procesados para consumo humano.

En tablas 7 a 10 se presentan los datos relacionados con cultivos agrícolas en todo el mundo que han sido reportados hasta la fecha. La contaminación de fumonisinas en productos agrícolas refleja la incidencia de la infección por *F. moniliforme* en las temporadas de prerecolección, recolección y almacenamiento, las cuales son influenciadas por diversos factores ambientales como temperatura, humedad, temporadas de lluvias y daño por insectos (Shephard *et al.*, 1996). Además la contaminación por estas toxinas varía de región a región y de año a año. Ejemplo de esto, son las cosechas de maíz recolectadas en Estados Unidos en el periodo de 1988-1992, donde los niveles de fumonisinas fueron mayores durante los primeros cuatro años, presentándose una disminución en el último año, Tabla 7 (Murphy *et al.*, 1993). En contraste, los niveles en las cosechas de maíz blanco de Sudáfrica se vieron disminuidos durante 1989 a 1991, permaneciendo casi constantes en los dos años siguientes, 1992 y 1993 (Tabla 9). Mientras que en el caso de las cosechas de maíz amarillo del mismo país, los niveles de fumonisinas fueron un 50% menores a los detectados para el maíz blanco, presentándose una situación opuesta en 1993, ya que estos se vieron aumentados (Shephard *et al.*, 1996).

La incidencia de fumonisinas en maíz de diferentes genotipos (Tabla 8 y 10) es también variable, lo cual se refleja en la contaminación de las cosechas de maíz en países de Europa y África en donde se detectaron altos niveles de fumonisinas en países como Benin, Zambia, Italia y Portugal, y bajos niveles en Croacia, Polonia y Rumania (Doko *et al.*, 1995). Estos resultados se relacionan con el predominio de *F. moniliforme* y la contaminación de fumonisinas es mayor en climas cálidos que en climas fríos del norte de Europa (Shephard *et al.* 1996).

Por otra parte, los reportes de incidencia de fumonisinas en Centro y Sudamerica, como en México son escasos, a pesar de que en la mayoría de los países latinoamericanos el maíz es el alimento principal para consumo humano. Un estudio con muestras de mazorcas de maíz blanco, recolectadas en el Estado de Nuevo León, reporta el aislamiento de 34 cepas de *F. moniliforme*, las cuales son capaces de producir altas cantidades de fumonisinas en cultivos de maíz, en un rango de 10 a 5,810 $\mu\text{g/g}$, lo que implica el potencial riesgo de la contaminación por estas toxinas en cosechas de maíz (Desjardins *et al.*, 1994).

En otros estudios, como el reportado en España, se ha visto que en el maíz se presentan mayores niveles de fumonisinas (4.8 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 y 1.9 $\mu\text{g/g}$ de FB_2) que en otros productos agrícolas como trigo (2.9 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 y 0.2 $\mu\text{g/g}$ de FB_2) y cebada (1.9 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 y 0.5 $\mu\text{g/g}$ de FB_2), Tabla 8 (Castellá *et al.*, 1999). De modo similar, en muestras de maíz y sorgo de la India se encontró una mayor concentración de FB_1 en maíz (4.74 $\mu\text{g/g}$) que en sorgo (0.51 $\mu\text{g/g}$), Tabla 8 (Prathapkumar y Bhat, 1997).

Otro aspecto interesante es la incidencia de fumonisinas en el maíz destinado a exportación pues hay variaciones de acuerdo al productor (Tabla 11), ya que se han reportado en general niveles promedio menores a 0.3 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 , en el maíz que fue exportado por Argentina, China y Sudáfrica. Mientras que los

niveles más altos fueron en las exportaciones hechas por Estados Unidos a Sudáfrica (2.35 $\mu\text{g/g}$ de FB_1) y Japón (2.22 $\mu\text{g/g}$ de FB_1), alcanzándose el máximo nivel en el maíz importado a Holanda de Francia, Alemania y Bélgica en su mayoría (3.35 $\mu\text{g/g}$ de FB_1).

B.- Incidencia de fumonisinas en alimentos para consumo animal

Reportes de brotes del edema pulmonar porcino y de la degeneración leucoencefálica equina, así como la asociación de ambas micotoxicosis con la FB_1 , promovieron el estudio de la incidencia de fumonisinas en alimentos que contienen maíz destinados para consumo animal (Ross *et al.*, 1990).

Las Tablas 12-14 muestran los datos de la contaminación de fumonisinas en alimentos destinados para consumo animal, tanto en alimentos que han sido implicados en los brotes de la degeneración leucoencefálica equina y edema pulmonar porcino, como en alimentos asociados con otras micotoxicosis. Se observa que los niveles de fumonisinas en alimentos implicados con brotes de la degeneración leucoencefálica equina y del edema pulmonar porcino son altos e incluso son mayores a los que se han reportado para productos agrícolas, alcanzándose concentraciones de 130 y 330 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 , respectivamente (Shephard *et al.*, 1996).

Las fumonisinas han sido relacionadas con otras micotoxicosis, como la presentada en conejos en Brasil, y cuyos signos clínicos fueron pérdida de equilibrio, parálisis y rechazo al alimento, sin embargo en muestras de alimentos analizados no se detectaron concentraciones de fumonisinas. En cambio en las muestras asociadas con síntomas de diarrea y lesiones en el tracto gastrointestinal en pollos, si se detectaron niveles de FB_1 de 5.1 $\mu\text{g/g}$ y de FB_2 de 1.2 $\mu\text{g/g}$ (Tabla 14). El efecto de las fumonisinas en la sintomatología presentada en conejos y pollos no es todavía conocida (Sydenham *et al.*, 1992). En otro estudio, Bane *et al.* (1992) reporto niveles de fumonisinas B_1 y B_2 mayores a 20 $\mu\text{g/g}$, en alimentos asociados

con ciertos casos de una enfermedad en porcino caracterizada por anorexia, fiebre y problemas reproductivos, tales como, abortos, partos con crías muertas y un ciclo estrogénico anormal, en el cual la etiología de las fumonisinas tampoco es clara.

En contraste con los niveles de fumonisinas encontrados en alimentos implicados con alguna micotoxicosis, en los alimentos no asociados con alguna de ellas se han reportado niveles de fumonisinas menores a 10 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 (Tabla 15 a 18). En el caso de alimentos para aves de corral, conejos y animales domésticos como perros y gatos, se han detectado incluso niveles menores a 2 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 (Ross *et al.*, 1991; Pittet *et al.*, 1992; Hopmans y Murphy, 1993; Prathap Kumar y Bhat, 1997).

De manera poco frecuente, se ha reportado la incidencia natural de las fumonisinas de la serie C. Pero en un estudio reciente, Seo y Lee en 1999 detectaron la presencia de estas fumonisinas en conjunto con la serie B, en alimentos derivados de maíz para consumo animal, siendo el nivel de la serie C solo el 10% del nivel presentado por la serie B (Tabla 17), presentándose concentraciones de FC_1 , FC_3 y FC_4 de 1.9, 1.7 y 0.5 $\mu\text{g/g}$, respectivamente.

C.- Incidencia de fumonisinas en alimentos para consumo humano

Como ya se ha mencionado los alimentos derivados de maíz para consumo humano presentan la menor contaminación de fumonisinas, siendo esto debido a los procesos a los que es sometido el maíz (Shephard *et al.*, 1996). Dentro de estos alimentos, los niveles más altos de fumonisinas se detectan en productos como fécula de maíz, harina de maíz, maíz fragmentado, sémola de maíz y polenta, en los cuales el maíz ha sido solo sometido a molienda en seco. En cambio, los alimentos que han sufrido un proceso adicional, como extrusión (copos de maíz), horneado (pan y panques de maíz), cocción (alimentos para bebés), nixtamalización (masa y tortillas) o que han sido freídos (totopos y tostadas de maíz) o enlatados (maíz dulce), presentan niveles menores de fumonisinas, y cuyas concentraciones con

frecuencia no superan 1 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 , ver Tablas 19 a 22 (Sydenham *et al.*, 1991; Pittet *et al.*, 1992; Hopmans y Murphy, 1993; Shephard *et al.*, 1996; Rumbelha y Oehme, 1997; Tseng y Liu, 1997; Castelo *et al.*, 1998).

Estudios en los cuales se han analizado alimentos sometidos a nixtamalización, han mostrado que la mayor parte de la cantidad de FB_1 , está en la forma hidrolizada, HFB_1 . Uno de estos estudios fue realizado en muestras de masa y tortillas recolectadas en la frontera Texas-México donde se detectaron concentraciones promedio de 0.18 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 de 0.08 $\mu\text{g/g}$ para HFB_1 en las muestras de tortillas; en el caso de las muestras de masa se detectaron concentraciones de 0.26 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 y 0.64 $\mu\text{g/g}$ de HFB_1 (Tabla 18). Un estudio simultáneo reportó concentraciones promedio de 0.70 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 en muestras de maíz molido de Washington; haciendo una comparación de ambos estudios se observó que hay una disminución en los niveles de FB_1 (Stack, 1998). En contraste, con estos resultados, Dombrink-Kurtzman y Dvorak (1999), detectaron concentraciones altas de FB_1 (1.8 $\mu\text{g/g}$) en muestras de masa y tortillas de México (Nuevo León, Jalisco, Coahuila, Puebla, Chihuahua). Una posible explicación para esto es que el proceso de nixtamalización fue incompleto, o que el pericarpio, en el cual se encuentran localizadas en su mayoría las fumonisinas, sólo fue removido parcialmente encontrándose de esta manera altos niveles de FB_1 .

Por otra parte, además de encontrar fumonisinas en productos derivados de maíz, también se ha reportado la incidencia de estas toxinas en leche, en donde los niveles de FB_1 son muy bajos (1.3 ng/mL). Otro producto en el cual se han detectado niveles bajos de fumonisinas, en un rango de 3 a 36 ng/mL, es la cerveza, la cual emplea en algunas ocasiones granos de maíz para su elaboración (Torres *et al.*, 1998).

D:- Incidencia de fumonisinas en países donde se presentan altos índices de cáncer esofágico

Varios estudios han demostrado una correlación estadística entre la infección por *F. moniliforme* y los niveles de fumonisinas en maíz en áreas donde hay una alta incidencia de cáncer esofágico. Estos estudios se han enfocado tanto en áreas asociadas con baja y alta incidencia de cáncer esofágico en Sudáfrica, China y Estados Unidos (Sydenham *et al.*, 1991; Thiel *et al.*, 1992; Chu y Li, 1994; Yoshizawa *et al.*, 1994).

Con frecuencia en áreas rurales, como en Transkei, Sudáfrica, los habitantes separan el maíz bueno (no visiblemente enmohecido) del maíz enmohecido, para posteriormente utilizarlo como materia prima para la fabricación de cerveza y otros productos alimenticios. Los análisis de muestras de maíz para consumo humano, recolectadas en esta región de alta incidencia de cáncer esofágico, muestran niveles altos de fumonisinas (117.5 µg/g de FB1), de igual forma se han detectado altos niveles en muestras de maíz del condado de Cixian en China, alcanzándose concentraciones de 154.9 µg/g de FB1, Tabla 23 (Chu y Li, 1994; Shepard *et al.*, 1996). En muestras de maíz de áreas donde hay baja incidencia de cáncer esofágico, como lo es el condado de Shangqiu, en China, se han reportado niveles dos veces más bajos (1.73 µg/g) a los detectados en el condado de Lixian (2.96 µg/g), otra área de alta incidencia de cáncer esofágico (Yoshizawa *et al.*, 1994).

En Estados Unidos el cáncer esofágico es un proceso maligno poco frecuente (1%), donde la incidencia de fumonisinas en productos comerciales derivados de maíz es menor a los niveles encontrados en maíz de Transkei, Tabla 23 (Sydenham *et al.*, 1991).

La incidencia fumonisinas se ha tratado de asociar con otro tipo de cáncer, como el de estómago, el cual en el condado de Linq, Provincia de Shandong en China, es excepcionalmente alto. Algunos estudios han revelado que el riesgo de

cáncer de estómago se incrementa un 30% en aquellas personas que consumen panqueques de maíz (fermentado), el cual es un bocadillo local exquisito. Por ello, Groves *et al.* (1999) han determinado la incidencia de fumonisinas en este producto analizando maíz, maíz molido, pasta fermentada y sin fermentar, y panqueques cocidos del condado de Linqu, con la finalidad de encontrar una posible relación entre el riesgo de cáncer de estómago entre la población que consume panqueques en esta región. Los niveles de FB₁ encontrados fueron mayores a 0.5 µg/g en 24 de 80 muestras, incluyendo 3 de maíz, 7 de maíz molido, 3 de pasta sin fermentar, 3 de pasta fermentada y 7 de panqueques cocidos, siendo la máxima concentración detectada de 8.8 µg/g. La FB₂ y la FB₃ fueron detectadas en concentraciones de 0.5 a 2.8 µg/g y 0.5 a 0.9 µg/g, respectivamente. Estos resultados a comparación con los reportados en el condado de Lixian (18-155 µg/g de FB₁), área de alto riesgo de cáncer de estómago y de esófago, son menores indicando que no hay una relación de riesgo de cáncer de estómago en aquellas personas que consuman estos productos.

También se ha tratado de relacionar la incidencia de las fumonisinas en casos de intoxicaciones alimentarias que fueron registradas en el periodo de 1985-1990, en la provincia de Guangxi, China. El maíz implicado con estas intoxicaciones mostró niveles bajos de FB₁ (0.53 µg/g), FB₂ (0.12 µg/g) y FB₃ (0.04 µg/g). Además se observó que no se relacionaba la presencia de estas toxinas en las intoxicaciones reportadas, ya que los síntomas eran similares a los que se presentan en las intoxicaciones esporádicas de la enfermedad del moho rojo "akakabi-byo" en Japón, la cual es producida principalmente por el deoxinivalenol y nivalenol en trigo, cebada, avena, centeno y arroz. De los cuales, el trigo y la cebada, que también fueron implicados en estas intoxicaciones, presentaron niveles altos de deoxinivalenol y nivalenol (Li *et al.*, 1999).

Tabla 7. Incidencia de fumonisinas en productos agrícolas en América.

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|---------|-----------|---------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Maíz | EUA | 1991 | 28(24) | 0.87 | 0-1.82 | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz | EUA | 1988 | 22* | 2.5 | 0-14.9 | 0.7 | 0-5.7 | 0.2 | 0-2.1 | Murphy <i>et al.</i> , 1993 |
| Maíz | EUA | 1989 | 44* | 2.9 | 0-37.9 | 0.8 | 0-12.3 | 0.2 | 0-4.0 | Murphy <i>et al.</i> , 1993 |
| Maíz | EUA | 1990 | 59* | 3.3 | 0-19.1 | 0.9 | 0-6.1 | 0.3 | 0-2.8 | Murphy <i>et al.</i> , 1993 |
| Maíz | EUA | 1991 | 50* | 2.9 | 0-15.8 | 0.8 | 0-4.4 | 0.4 | 0-2.3 | Murphy <i>et al.</i> , 1993 |
| Maíz | EUA | 1992 | 80* | 0.05 | 0-1.6 | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz | EUA | 1991 | 886(284) | <1µg/g | | 1-10µg/g:276 | >10µg/g:8 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz | EUA | 1992 | 91* | 0.37 | 0-8.4 | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz | EUA | 1990 | 99(13) | 2.4 | 1.2-3.2 | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz | Canadá | 1992-94 | 3(1) | 0.12 | <0.1-0.12 | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz | Canadá | 1991-94 | 48(16) | 0.76 | 0.16-2.30 | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz | Argentina | 1991 | 17(17) | 2.88 | 1.11-6.70 | 1.14 | 0.33-2.68 | 0.37 | 0.11-0.86 | Sydenham <i>et al.</i> , 1993 |
| Maíz | Honduras | 1992-93 | 59(23) | 1.35 | 0.068-6.55 | | | | | Julian <i>et al.</i> , 1995 |

*=Muestras totales

Tabla 8. Incidencia de fumonisinas en productos agrícolas de Europa

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|-------------------|----------|---------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Genotipos de maíz | Croacia | 1992 | 19(11) | 0.02 | <0.01-0.06 | 0.01 | <0.01-0.01 | Doko <i>et al.</i> , 1995 |
| Granos de maíz | Italia | 1992-93 | 7(7) | 2.81 | 0.10-5.31 | 0.84 | 0.03-1.48 | Doko <i>et al.</i> , 1995 |
| Genotipos de maíz | Italia | 1990-91 | 26(26) | 0.38 | 0.01-2.33 | 0.14 | <0.01-0.52 | Doko <i>et al.</i> , 1995 |
| Genotipos de maíz | Polonia | 1992 | 7(2) | 0.02 | <0.01-0.02 | 0.01 | <0.01-0.01 | Doko <i>et al.</i> , 1995 |
| Genotipos de maíz | Portugal | 1992 | 9(9) | 1.03 | 0.09-2.30 | 1.21 | <0.01-4.45 | Doko <i>et al.</i> , 1995 |
| Genotipos de maíz | Rumania | 1992 | 6(3) | 0.01 | 0.01-0.02 | 0.01 | <0.01-0.01 | Doko <i>et al.</i> , 1995 |
| Maíz | España | 1993 | 17(15) | 0.58 | 0-2.20 | 0.33 | 0-0.70 | Sanchis <i>et al.</i> , 1995 |
| Maíz triturado | España | 1993 | 15(15) | 0.41 | 0-1.50 | 0.23 | 0-0.50 | Sanchis <i>et al.</i> , 1995 |
| Maíz | España | 1994-96 | 55(48) | 4.8 | 0.2-19.2 | 1.9 | 0.2-5.9 | Castellá <i>et al.</i> , 1999 |
| Trigo | España | 1994-96 | 29(21) | 2.9 | 0.2-8.8 | 0.2 | | Castellá <i>et al.</i> , 1999 |
| Cebada | España | 1994-96 | 17(8) | 1.9 | 0.2-11.6 | 0.5 | | Castellá <i>et al.</i> , 1999 |

Tabla 9. Incidencia de fumonisinas en productos agrícolas de Asia

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|----------------|-----------|---------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|--------------------------------|
| Granos de maíz | China | 1992 | 5(2) | 6.8 | 5.3-8.4 | 3.3 | 2.3-4.3 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Granos de maíz | Filipinas | 1992-94 | 50(32) | 0.42 | 0.05-1.82 | 0.28 | 0.05-1.2 | Yamashita <i>et al.</i> , 1995 |
| Granos de maíz | Tailandia | 1992-94 | 27(19) | 1.58 | 0.06-18.8 | 0.25 | 0.05-1.4 | Yamashita <i>et al.</i> , 1995 |
| Granos de maíz | Indonesia | 1992-94 | 12(7) | 0.84 | 0.22-1.78 | 0.44 | 0.23-0.55 | Yamashita <i>et al.</i> , 1995 |
| Maíz | India | | 35(26) | 0.62 | 0.01-4.74 | | | Prathapkumar y Ramesh, 1997 |
| Maíz | India | | 25(25) | 1.17 | 0.04-64.7 | | | Prathapkumar y Ramesh, 1997 |
| Sorgo | India | | 44(2) | 0.27 | 0.15-0.51 | | | Prathapkumar y Ramesh, 1997 |
| Sorgo | India | | 19(19) | 0.48 | 0.07-7.8 | | | Prathapkumar y Ramesh, 1997 |
| Maíz | Taiwan | 1996-97 | 110(49) | 0.23 | 0.11-1.14 | 0.24 | 0.22-0.25 | Tseng y Liu, 1999 |
| Granos de maíz | Nepal | 1990-91 | 24(12) | 0.6 | <0.05-4.6 | 1.6 | <0.1-5.5 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |

Tabla 10. Incidencia de fumonisinas en cultivos agrícolas de África.

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|-------------------|-----------|---------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Genotipos de maíz | Benin | 1992 | 11(9) | 0.51 | <0.01-2.63 | 0.15 | <0.10-0.68 | | | Doko <i>et al.</i> , 1995 |
| Maíz blanco | Sudáfrica | 1989 | 68(50) | 0.57 | <0.05-5.42 | 0.19 | <0.05-1.6 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz amarillo | Sudáfrica | 1989 | 53(31) | 0.18 | <0.05-1.12 | 0.05 | <0.05-0.70 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz blanco | Sudáfrica | 1990 | 66(55) | 0.38 | <0.02-5.03 | 0.14 | <0.02-1.67 | 0.04 | <0.02-0.40 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz amarillo | Sudáfrica | 1990 | 62(50) | 0.18 | <0.02-1.06 | 0.07 | <0.02-0.32 | 0.02 | <0.02-0.20 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz blanco | Sudáfrica | 1991 | 77* | 0.32 | 0-3.05 | 0.03 | 0-0.27 | 0.01 | 0-0.34 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz amarillo | Sudáfrica | 1991 | 82* | 0.19 | 0-1.84 | 0.03 | 0-0.69 | <0.01 | 0-0.12 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz blanco | Sudáfrica | 1992 | 71* | 0.34 | 0-1.81 | 0.05 | 0-0.74 | 0.01 | 0-0.18 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz amarillo | Sudáfrica | 1992 | 76* | 0.17 | 0-0.74 | 0.03 | 0-0.54 | 0.01 | 0-0.33 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |

*=Muestras totales

Tabla 10. (Continuación)

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|-------------------|-----------|---------|-----------------------------------|------------------------------------|--------------|------------------------------------|--------------|------------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Maíz blanco | Sudáfrica | 1993 | 113* | 0.32 | 0-5.64 | 0.08 | 0-1.43 | 0.03 | 0-0.40 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz amarillo | Sudáfrica | 1993 | 117* | 0.68 | 0-11.77 | 0.22 | 0-5.69 | 0.11 | 0-1.96 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz | Sudáfrica | 1992 | 12* | 0.41 | 0-2.04 | 0.12 | 0-1.09 | <0.01 | 0-0.06 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz | Sudáfrica | 1993 | 59* | 0.34 | 0-4.40 | 0.11 | 0-1.29 | 0.04 | 0-0.80 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Genotipos de maíz | Zambia | 1992 | 20(20) | 0.18 | 0.02-1.42 | 0.05 | <0.01-0.29 | | | Doko <i>et al.</i> , 1995 |
| Maíz | Gambia | | 10(0) | <0.02 | | <0.02 | | <0.02 | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Granos de maíz | Egipto | | 18* | 408.2 | 69-4,495 | | | | | Fadi, 1998 |

*=Muestras totales

Tabla 11. Incidencia de fumonisinas en maíz de exportación.

| Origen | Destino | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|-----------|-----------|---------|-----------------------------------|------------------------------------|--------------|------------------------------------|--------------|------------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Argentina | Sudáfrica | 1991 | 547 | 0.29 | 0-4.33 | 0.02 | 0-1.25 | | | Rheeder <i>et al.</i> , 1994 |
| Argentina | Sudáfrica | 1992 | 47(47) | 0.30 | 0.05-0.72 | 0.11 | <0.05-0.50 | 0.08 | <0.05-0.50 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| China | Sudáfrica | 1992 | | 0.25 | | 0.01 | | <0.01 | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Sudáfrica | Taiwan | 1989 | 68(24) | 0.28 | <0.05-0.87 | 0.13 | <0.05-0.25 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| EUA | Japón | 1988-91 | 6(5) | 2.22 | <0.05-4.10 | 3.12 | <0.10-10.2 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| EUA | Sudáfrica | 1991 | 846** | 0.95 | 0-7.47 | 0.12 | 0-2.47 | | | Rheeder <i>et al.</i> , 1994 |
| EUA | Sudáfrica | 1992 | 836** | 0.96 | 0-7.60 | 0.14 | 0-3.12 | | | Rheeder <i>et al.</i> , 1994 |
| EUA | Sudáfrica | 1992 | 79(79) | 2.35 | 0.89-3.86 | 0.67 | 0.26-1.12 | 0.25 | 0.08-0.55 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| * | Holanda | 1994-96 | 54(53) | 0.66 | 0.025-3.3 | | | | | De Nijs <i>et al.</i> , 1998 |

*El 80% fue importado de Francia, el 10% de Alemania, el 4% de Bélgica y un porcentaje menor de 0.01 a 1.00% de otros países.

**=Muestras totales

Tabla 12. Niveles de fumonisinas en alimentos para consumo animal que han sido implicados en la degeneración leucoencefálica equina

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|------------------------------------|-----------|---------|-----------------------------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|--|
| Alimentos derivados de maíz | Brasil | 1985-90 | 14(14) | 10.3 | 0.2-38.5 | 3.8 | <0.05-12.0 | | | Sydenham <i>et al.</i> , 1992 |
| Maíz triturado | Italia | 1993 | 1(1) | 60 | | 15 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz blanco triturado | Sudáfrica | 1990 | 1(1) | 8.85 | | 3 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz | EUA | 1989 | 3(3) | 72 | 37-122 | 12 | 2-23 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz | EUA | | 1(1) | 86 | | 55 | | | | Park <i>et al.</i> , 1992 |
| Maíz | EUA | 1992-93 | 5(5) | 14.2 | 10-23 | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz | EUA | 1986 | 2(2) | 71 | 12-130 | 8.5 | Traza-17 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz y alimentos derivados de maíz | EUA | 1983-86 | 14(14) | 7.7 | 1.3-27.0 | 3.1 | 0.1-12.6 | 0.56 | <0.05-2.65 | Thiel <i>et al.</i> , 1991 a; Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Alimentos derivados de maíz | EUA | 1989-90 | 61(61) | 25 | 1-126 | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |

Tabla 12 (Continuación)

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|-----------------------------|--------|---------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Alimentos derivados de maíz | EUA | 1984-85 | 13(13) | 17 | 1-32 | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Alimentos derivados de maíz | EUA | 1989-90 | 98(77) | 31 | <1-126 | | | | | Ross <i>et al.</i> , 1991 |
| Maíz | México | 1997 | 14(11) | 7.25 | 0.67-28.5 | | | | | Rosiles <i>et al.</i> , 1998 |

Tabla 13. Niveles de fumonisinas en alimentos para consumo animal implicados con el edema pulmonar porcino

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|------------------------------------|--------|---------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Alimentos derivados de maíz | Brasil | 1985-90 | 3(3) | 10 | 8.5-11.1 | 2.8 | 1.9-3.2 | | | Sydenham <i>et al.</i> , 1992 |
| Maíz roto | EUA | 1989 | 2(2) | 130 | 105-155 | | | | | Colvin y Harrison, 1992 |
| Maíz y alimentos derivados de maíz | EUA | 1989 | 29(29) | 76 | 3-330 | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz | EUA | 1989-90 | 83(70) | 65 | <1-330 | | | | | Ross <i>et al.</i> , 1991 |

Tabla 14. Niveles de fumonisinas en alimentos para consumo animal implicados con otras micotoxicosis

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|-----------------------------|--------|---------|-----------------------------------|--|--------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Alimentos derivados de maíz | Brasil | 1985-90 | 4(3) | 4.1 | <0.05-7.0 | 1.4 | <0.05-1.5 | | | Sydenham <i>et al.</i> , 1992 |
| Alimentos para cerdos | EUA | 1990 | 12(12) | FB ₁ +FB ₂ , promedio de 31, | rango, 7-73 | | | | | Bane <i>et al.</i> , 1992 |

Tabla 15. Incidencia de fumonisinas en alimentos para consumo animal no implicados con alguna micotoxicosis en América

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|------------------------|--------|---------|-----------------------------------|--|--------------|---------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Alimento para cerdos | EUA | 1990 | 9(8) | FB ₁ +FB ₂ =15.0 | 0-33 | | | Bane <i>et al.</i> , 1992 |
| Maíz completo | EUA | 1992-93 | 234(233) | <25 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz roto | EUA | 1992-93 | 22(22) | <5 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz triturado | EUA | 1992-93 | 55(55) | <25 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Alimento para ganado | EUA | 1992-93 | 7(7) | <5 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Alimento para caballos | EUA | 1992-93 | 1(0) | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz completo | EUA | 1993-94 | 250(248) | >25 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |

Tabla 15 (Continuación)

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|------------------------------|--------|---------|-----------------------------------|--|--------------|---------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Maíz roto | EUA | 1993-94 | 36(36) | <5 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz triturado | EUA | 1993-94 | 9(9) | >25 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Alimento para vacas | EUA | 1993-94 | 1(1) | <5 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Alimento para caballos | EUA | 1993-94 | 3(3) | <5 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz triturado | EUA | 1989 | 180 | 20.8 | 0.1-239 | | | Murphy <i>et al.</i> , 1993 |
| Maíz triturado | EUA | 1990 | 85(85) | FB ₁ +FB ₂ =12.1 | 2.6-32 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Alimento para gatos | EUA | 1989-90 | 2(2) | 0.60 | 0.22-0.99 | 0.13 | 0.13-0.14 | Hopmans y Murphy, 1993 |
| Alimento para perros | EUA | 1989-90 | 2(2) | 1.12 | 0.82-1.41 | 0.12 | 0.10-0.14 | Hopmans y Murphy, 1993 |
| Alimento para caballos | EUA | 1989-90 | 19(7) | 4 | <1-9 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Alimento para caballos | EUA | 1989-90 | 6(1) | 9 | <1-9 | | | Ross <i>et al.</i> , 1991 |
| Alimento para cerdos | EUA | 1989-90 | 21(8) | 3.6 | <1-8 | | | Ross <i>et al.</i> , 1991 |
| Maíz triturado | EUA | 1990 | 6(6) | 55.40 | 1.74-196.5 | 15.08 | 0.59-42.84 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Alimento para aves de corral | EUA | 1989-90 | 3(1) | 2 | <1-2 | | | Ross <i>et al.</i> , 1991 |
| Alimento para conejos | EUA | 1989-90 | 1(0) | <1 | | | | Ross <i>et al.</i> , 1991 |
| Alimento para ratas | EUA | 1989-90 | 1(1) | 0.22 | | <0.02 | | Hopmans y Murphy, 1993 |

Tabla 15 (Continuación)

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|------------------------|--------|---------|-----------------------------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------|
| Alimento para ratas | EUA | 1993 | 29(0) | <1 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Alimento para roedores | EUA | 1989-90 | 1(1) | 6 | | | | Ross <i>et al.</i> , 1991 |
| Alimento para roedores | EUA | 1993 | 1(0) | <0.2 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |

Tabla 16. Incidencia de fumonisinas en alimentos para consumo animal no implicados con alguna micotoxicosis de Europa

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|------------------------------|------------|---------|-----------------------------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------|
| Alimento para aves de corral | Suecia | 1991 | 22(6) | 0.24 | 0-0.48 | 0.09 | 0-0.12 | Pittet <i>et al.</i> , 1992 |
| Fracción proteica de maíz | Inglaterra | 1992 | 29(24) | 1.04 | <0.05-4.55 | 0.05 | <0.05-0.07 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Alimento para cerdos | España | 1994-96 | 47(42) | 2.4 | 0.40-11.60 | | | Castellá <i>et al.</i> , 1999 |
| Alimento para caballos | España | 1994-96 | 20(14) | 3.5 | 0.40-23.60 | 0.3 | | Castellá <i>et al.</i> , 1999 |
| Alimento para aves de corral | España | 1994-96 | 2(2) | 1.3 | 1.10-1.40 | | | Castellá <i>et al.</i> , 1999 |

Tabla 17 Incidencia de fumonisinas en alimentos para consumo animal no implicados con alguna micotoxicosis de Asia

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|------------------------------|-----------|---------|-----------------------------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------|
| Alimento con gluten | Japón | 1988-92 | 6(6) | 1.1 | 0.3-2.4 | 3.7 | <0.1-8.5 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Granos de maíz | Corea | 1992 | 12(5) | 0.51 | <0.03- 1.33 | 0.29 | <0.05-0.68 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Semillas de maíz | Tailandia | 1993 | 22(5) | 0.81 | <0.05- 1.59 | 0.23 | <0.10-0.35 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Alimento para aves de corral | India | 1997 | 14(5) | 0.10 | 0.02-0.26 | | | | | Magnoli <i>et al.</i> , 1999 |
| Maíz | Corea | 1997 | 44(38) | 18.5 | 0.10-160 | 5.6 | 0.09-46 | 2.5 | 0.05-31 | Seo y Lee, 1997 |

Tabla 18. Niveles de fumonisinas en alimentos para consumo animal no implicados con alguna micotoxicosis de África

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|---------------------------|-----------|---------|-----------------------------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------|
| Salvado de maíz | Sudáfrica | 1990-91 | 23* | 0.90 | 0-4.48 | 0.26 | 0-1.79 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Salvado de maíz | Sudáfrica | 1992 | 4(4) | 0.42 | 0.23-0.60 | 0.03 | 0-0.13 | 0.01 | 0-0.05 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Salvado de maíz | Sudáfrica | 1993 | 85* | 0.41 | 0-3.54 | 0.12 | 0-1.27 | 0.04 | 0-1.03 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Germen de maíz molido | Sudáfrica | 1992 | 2(2) | 1.33 | 0.48-2.18 | 0.77 | 0-1.55 | 0.48 | 0.05-0.90 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Germen de maíz molido | Sudáfrica | 1993 | 21(21) | 0.29 | 0.05-1.01 | 0.08 | 0-0.42 | 0.01 | 0-0.10 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Alimento derivado de maíz | Sudáfrica | 1993 | 165* | 0.57 | 0-8.55 | 0.14 | 0-1.50 | 0.05 | 0-0.74 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz triturado | Sudáfrica | 1991-92 | 15(15) | 2.10 | 0.47-4.34 | 0.97 | 0.10-2.60 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz triturado | Sudáfrica | 1992 | 24(24) | 1.15 | 0.23-3.78 | 0.40 | 0-1.42 | 0.16 | 0-0.55 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz triturado | Sudáfrica | 1993 | 37(37) | 5.01 | 0.05-44.75 | 2.36 | 0-26.89 | 0.84 | 0-12.18 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |

*=Muestras totales

Tabla 19. Niveles de fumonisinas en muestras de alimentos derivados de maíz para consumo humano de América.

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|-------------------------|--------|---------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Fécula y sémola de maíz | Canadá | 1991-94 | 53(18) | 0.53 | <0.10-3.50 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz fragmentado | Canadá | 1991-93 | 3(1) | 0.80 | <0.10-0.80 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Harina de maíz | Canadá | 1991-94 | 39(11) | 0.55 | <0.10-1.60 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Copos de maíz | Canadá | 1991-94 | 52(11) | 0.14 | <0.10-0.32 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Diversos | Canadá | 1991-94 | 71(5) | 0.33 | <0.10-1.20 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz triturado | EUA | 1990-91 | 16(15) | 1.05 | <0.05-2.79 | 0.30 | <0.05-0.92 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz triturado | EUA | | 13(11) | 0.97 | <0.08-2.8 | 0.30 | <0.10-1.0 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz triturado | EUA | 1990-91 | 16(16) | 0.86 | 0.28-2.05 | 0.20 | 0.05-0.53 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz blanco triturado | EUA | 1991 | 12(10) | 0.55 | <0.10-1.12 | 0.21 | <0.10-0.52 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz amarillo molido | EUA | 1991 | 6(5) | 0.98 | <0.10-1.71 | 0.38 | <0.10-0.47 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz blanco molido | EUA | 1989-90 | 2(2) | 0.29 | 0.21-0.36 | 0.05 | 0.03-0.06 | Hopmans y Muyphey, 1993 |
| Maíz amarillo molido | EUA | 1989-90 | 4(4) | 0.72 | 0.56-0.84 | 0.24 | 0.12-0.41 | Hopmans y Murphy, 1993 |
| Polvo para hornear | EUA | 1991 | 1(1) | 2.58 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz amarillo molido | EUA | 1991 | 5(5) | 0.89 | 0.40-1.30 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz azul molido | EUA | 1991 | 1(1) | 6.32 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |

Tabla 19. (continuación)

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|-----------------------------|--------|---------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Maíz fragmentado | EUA | 1990-91 | 10(10) | 0.60 | 0.11-2.55 | 0.38 | <0.05-1.07 | Sydenham <i>et al.</i> , 1991 |
| Maíz fragmentado | EUA | | 3(1) | <0.08 | <0.08-0.08 | <0.10 | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz fragmentado | EUA | 1990-91 | 5(5) | 0.20 | 0.14-0.27 | 0.08 | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Copos de maíz | EUA | 1990-91 | 2(0) | <0.05 | | <0.05 | | Sydenham <i>et al.</i> , 1991 |
| Copos de maíz | EUA | 1990-91 | 17(9) | 0.13 | <0.01-0.33 | 0.03 | <0.01-0.07 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Palomitas | EUA | 1990-91 | 2(2) | 0.04 | 0.01-0.06 | <0.01 | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Tortillas | EUA | 1990-91 | 3(1) | 0.06 | <0.05-0.06 | <0.05 | | Sydenham <i>et al.</i> , 1991 |
| Diversos | EUA | 1989-90 | 4(4) | 0.17 | 0.02-0.32 | <0.01 | | Hopmans y Muyphey, 1993 |
| Diversos | EUA | 1990-91 | 4(4) | 0.41 | 0.09-0.70 | 0.15 | <0.05-0.24 | Sydenham <i>et al.</i> , 1991 |
| Diversos | EUA | 1990-91 | 9(4) | 0.07 | <0.01-0.12 | 0.02 | <0.01-0.03 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Diversos | EUA | 1991 | 5(3) | 0.54 | <0.05-1.21 | - | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz con tramiento alcalino | Perú | 1990-91 | 2(0) | <0.05 | | <0.05 | | Sydenham <i>et al.</i> , 1991 |

Tabla 19. (continuación)

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|------------------|-----------|---------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|
| Fécula de maíz | Perú | 1990-91 | 2(1) | 0.66 | <0.05-0.66 | 0.14 | | Sydenham <i>et al.</i> , 1991 |
| Fécula de maíz | Venezuela | 1991 | 1(1) | 0.07 | | 0.02 | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Masa y tortillas | EUA | | | 0.16 | 0.04-0.38 | 0.06 | | Dombrink-Kurtman y Dvorak, 1999 |
| Masa y tortillas | México | | | 0.79 | 0.21-1.80 | 0.22 | 0.07-1.38 | Dombrink-Kurtman y Dvorak, 1999 |
| Masa | Guatemala | | | 0.97 | | 0.14 | | Dombrink-Kurtman y Dvorak, 1999 |
| Masa | Venezuela | | | 0.04 | | 0.01 | | Dombrink-Kurtman y Dvorak, 1999 |
| Masa | EUA | | 52(50) | 0.18 | 0.01-0.75 | | | Stack, 1998 |
| Tortillas | EUA | | 8(8) | 0.26 | 0.06-0.68 | | | Stack, 1998 |
| Maíz fragmentado | EUA | | | 0.70 | | 0.20 | | Stack, 1998 |

Tabla 19. (continuación)

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|------------------|-----------|---------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|
| Fécula de maíz | Perú | 1990-91 | 2(1) | 0.66 | <0.05-0.66 | 0.14 | | Sydenham <i>et al.</i> , 1991 |
| Fécula de maíz | Venezuela | 1991 | 1(1) | 0.07 | | 0.02 | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Masa y tortillas | EUA | | | 0.16 | 0.04-0.38 | 0.06 | | Dombrink-Kurtman y Dvorak, 1999 |
| Masa y tortillas | México | | | 0.79 | 0.21-1.80 | 0.22 | 0.07-1.38 | Dombrink-Kurtman y Dvorak, 1999 |
| Masa | Guatemala | | | 0.97 | | 0.14 | | Dombrink-Kurtman y Dvorak, 1999 |
| Masa | Venezuela | | | 0.04 | | 0.01 | | Dombrink-Kurtman y Dvorak, 1999 |
| Masa | EUA | | 52(50) | 0.18 | 0.01-0.75 | | | Stack, 1998 |
| Tortillas | EUA | | 8(8) | 0.26 | 0.06-0.68 | | | Stack, 1998 |
| Maíz fragmentado | EUA | | | 0.70 | | 0.20 | | Stack, 1998 |

Tabla 20. Incidencia de fumonisinas en alimentos derivados de maíz para consumo humano de Europa.

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|---|----------|---------|-----------------------------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------|
| Maíz fragmentado | Alemania | 1992-93 | 2(1) | 0.01 | <0.01- 0.01 | | | | | Usleber <i>et al.</i> , 1994 |
| Sémola de maíz, polenta | Alemania | 1992-93 | 5(4) | 0.02 | <0.01- 0.03 | | | | | Usleber <i>et al.</i> , 1994 |
| Sémola de maíz, polenta (importada de Italia) | Alemania | 1992-93 | 6(6) | 0.59 | 0.05-1.23 | | | | | Usleber <i>et al.</i> , 1994 |
| Sémola de maíz | Alemania | 1992-94 | 49(38) | | <0.01- 0.13 | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Sémola de maíz (importada de Italia) | Alemania | 1992-94 | 22(22) | | 0.18- 16.00 | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz dulce | Alemania | 1993-94 | 40(11) | | <0.01- 0.19 | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Palomitas | Alemania | 1992-93 | 6(4) | 0.07 | <0.01- 0.11 | | | | | Usleber <i>et al.</i> , 1994 |
| Palomitas | Alemania | 1992-94 | 29(13) | | <0.01- 0.16 | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Tabla 20 (Continuación)

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|------------------|----------|---------|-----------------------------------|------------------------------------|--------------|------------------------------------|--------------|------------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Papillas | Alemania | 1994 | 91(0) | <0.01 | | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Fécula de maíz | Hungría | 1992 | 1(0) | <0.05 | | <0.05 | | <0.05 | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz fragmentado | Italia | 1992-93 | 1(1) | 3.76 | | 0.91 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Harina de maíz | Italia | 1992-93 | 1(1) | 3.54 | | 0.84 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Polenta | Italia | 1992-93 | 6(6) | 2.15 | 0.42-3.73 | 0.48 | 0.08-0.84 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Polenta | Italia | | 20(20) | 1.38 | 0.15-3.76 | 0.37 | 0.06-0.91 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Pan de maíz | Italia | 1992-93 | 6(6) | 3.15 | 0.79-6.10 | 0.40 | 0.11-0.74 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz dulce | Italia | 1992-93 | 5(5) | 0.30 | 0.06-0.79 | <0.01 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Copos de maíz | Italia | 1992-93 | 2(1) | 0.01 | <0.01-0.01 | <0.01 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |

Tabla 20.(Continuación).

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|------------------|----------|---------|-----------------------------------|------------------------------------|--------------|------------------------------------|--------------|------------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Diversos | Italia | 1992-93 | 8(5) | 0.05 | <0.01-0.06 | 0.02 | <0.01-0.02 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Fécula de maíz | Bulgaria | 1992 | 15* | | <0.05-0.21 | | <0.05-0.15 | <0.05 | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Fécula de maíz | Francia | 1992 | 1(1) | 1.24 | | 0.39 | | 0.18 | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz fragmentado | España | 1993 | 15(3) | 0.06 | <0.05-0.09 | <0.05 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Harina de maíz | España | 1993 | 3(1) | 0.07 | <0.05-0.07 | <0.05 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Harina de maíz | España | 1993 | 25(5) | 0.13 | <0.03-0.33 | 0.06 | <0.05-0.06 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Copos de maíz | España | 1993 | 12(2) | 0.06 | <0.05-0.10 | <0.05 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Copos de maíz | España | 1993 | 15(0) | <0.03 | | <0.05 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Diversos | España | 1993 | 20(2) | 0.13 | <0.05-0.20 | <0.05 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |

Tabla 20.(Continuación).

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|--------------------------|--------|---------|-----------------------------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------|
| Diversos | Suecia | 1991 | 21(0) | <0.02 | | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz molido | Suecia | | 1(0) | <0.02 | | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Copos de maíz | Suecia | | 4(0) | <0.02 | | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz molido | Suiza | 1991 | 27(27) | 0.26 | <0.01-2.20 | 0.06 | <0.01-0.59 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Semola y polenta de maíz | Suiza | 1991 | 55(34) | 0.26 | 0-0.79 | 0.10 | 0-0.16 | | | Pittet <i>et al.</i> , 1992 |
| Copos de maíz | Suiza | 1991 | 12(1) | 0.06 | 0-0.06 | <0.05 | | | | Pittet <i>et al.</i> , 1992 |
| Maíz dulce | Suiza | 1991 | 7(1) | 0.07 | 0-0.07 | <0.05 | | | | Pittet <i>et al.</i> , 1992 |
| Diversos | Suiza | 1991 | 17(0) | <0.05 | | <0.05 | | | | Pittet <i>et al.</i> , 1992 |
| Fécula de maíz | Suiza | 1993 | 7(2) | 0.09 | 0-0.11 | <0.05 | | | | Pittet <i>et al.</i> , 1992 |

Tabla 21. Incidencia de fumonisinas en alimentos derivados de maíz de África.

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|------------------|-----------|---------|-----------------------------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------|
| Fécula de maíz | Kenia | 1992 | 3* | | <0.05-0.11 | | <0.55-0.14 | <0.05 | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Fécula de maíz | Sudáfrica | 1990-91 | 52(46) | 0.14 | <0.05-0.48 | 0.08 | <0.05-0.13 | | | Sydenham <i>et al.</i> , 1991 |
| Fécula de maíz | Sudáfrica | 1991 | 81* | 0.20 | 0-3.90 | 0.01 | 0-0.76 | <0.01 | 0-0.15 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Fécula de maíz | Sudáfrica | 1993 | 127* | 0.29 | 0-2.85 | 0.07 | 0-0.91 | 0.03 | 0-0.46 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz fragmentado | Sudáfrica | 1990-91 | 18(10) | 0.13 | <0.05-0.19 | 0.09 | <0.05-0.12 | | | Sydenham <i>et al.</i> , 1991 |
| Maíz fragmentado | Sudáfrica | 1991 | 8* | 0.13 | 0-0.74 | <0.01 | 0-0.07 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz fragmentado | Sudáfrica | 1993 | 73* | 0.14 | 0-1.38 | 0.02 | 0-0.42 | <0.01 | 0-0.16 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Harina de maíz | Sudáfrica | 1991 | 3* | 0.10 | 0-0.31 | | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Harina de maíz | Sudáfrica | 1993 | 13* | 0.55 | 0.04-3.91 | 0.09 | 0-0.81 | 0.04 | 0-0.47 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Copos de maíz | Sudáfrica | 1990-91 | 3(0) | <0.05 | | <0.05 | | | | Sydenham <i>et al.</i> , 1991 |
| Diversos | Sudáfrica | 1990-91 | 8(2) | 0.08 | <0.05-0.09 | <0.05 | | | | Sydenham <i>et al.</i> , 1991 |
| Fécula de maíz | Botswana | 1992 | 5(5) | | 0.18-0.45 | | <0.05-0.12 | | <0.05-0.12 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Fécula de maíz | Egipto | 1990-91 | 2(2) | 2.38 | 1.78-2.98 | 0.60 | 0.47-0.78 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Fécula de maíz | Zimbabwe | 1992 | 3(3) | | 1.06-3.63 | | 0.24-0.91 | | 0.13-0.23 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |

*=Muestras totales

Tabla 22. Incidencia de fumonisinas en alimentos derivados de maíz para consumo humano de Asia y Ocenía.

| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₃ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
|----------------------|---------------|---------|-----------------------------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------|
| Maíz fragmentado | Japón | 1988-92 | 17(14) | 0.5 | 0.2-2.6 | 1.0 | 0.3-2.8 | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz dulce | Japón | 1988-92 | 8(0) | <0.05 | | <0.10 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Diversos | Japón | 1988-92 | 38(0) | <0.05 | | <0.10 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Fécula de maíz | Nueva Zelanda | 1992 | 12(0) | <0.05 | | <0.05 | | <0.05 | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Fécula de maíz | China | 1992 | 3(0) | <0.05 | | <0.05 | | <0.05 | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Harina de maíz | China | 1992 | 4(3) | 0.10 | 0.06-0.20 | <0.10 | | | | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Botanas de maíz | Taiwan | 1994-95 | 78(26) | 0.45 | <0.10-2.40 | 0.14 | <0.15-0.71 | | | Tseng y Lui, 1999 |
| Maíz dulce enlatado | Taiwan | 1994-95 | 24(12) | 0.40 | <0.10-1.08 | 0.06 | <0.15-0.65 | | | Tseng y Lui, 1999 |
| Palomitas de maíz | Taiwan | 1994-95 | 22(7) | 0.34 | <0.10-1.00 | 0.11 | <0.15-0.27 | | | Tseng y Lui, 1999 |
| Harina de maíz | Taiwan | 1994-95 | 2(1) | 0.60 | <0.10-0.60 | | | | | Tseng y Lui, 1999 |
| Diversos | Taiwan | 1994-95 | 6(2) | 0.05 | <0.10-0.73 | | | | | Tseng y Lui, 1999 |
| Cereal para desayuno | Taiwan | 1994-95 | 17(4) | 0.49 | 0.14-1.28 | 0.16 | 0.12-0.46 | | | Tseng y Lui, 1999 |

Tabla 23. Niveles de fumonisinas en maíz de Transkei, Cixian, Linxian, Shangqiu y Charleston donde hay altos índices de cáncer esofágico

| Transkei, Sud-Africa | | | | | | | | |
|-----------------------------|------------|---------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Muestra | Origen | Año (s) | Total (No. de muestras positivas) | FB ₁ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | FB ₂ Promedio (µg/g) | Rango (µg/g) | Referencia |
| Maíz bueno | BCE | 1985 | 12(3) | 0.38 | 0-0.55 | 0.08 | 0-0.15 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| | ACE | 1985 | 12(12) | 1.60 | 0.05-7.90 | 0.61 | 0-2.25 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz enmohecido | BCE | 1985 | 11(11) | 6.52 | 0.45-18.90 | 2.50 | 0.15-6.75 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| | ACE | 1985 | 12(12) | 23.90 | 3.45-46.90 | 7.55 | 0.90-16.30 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz bueno | BCE | 1989 | 8(6) | 0.67 | 0-3.31 | 0.52 | 0-0.97 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| | ACE | 1989 | 6(5) | 1.84 | 0-5.38 | 0.51 | 0-1.32 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| Maíz enmohecido | BCE | 1989 | 7(7) | 4.05 | 0.11-11.34 | 1.28 | 0-3.70 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| | ACE | 1989 | 6(6) | 53.74 | 3.02-117.5 | 13.68 | 0.75-22.96 | Shephard <i>et al.</i> , 1996 |
| China | | | | | | | | |
| Maíz bueno | Linxian | 1991 | 7(7) | 30.4 | 19.8-60.0 | ND | | Chu y Li, 1994 |
| | Cixian | 1991 | 8(8) | 39.5 | 30.3-47.9 | ND | | Chu y Li, 1994 |
| Maíz enmohecido | Linxian | 1991 | 9(9) | 49.3 | 17.9-118.4 | ND | | Chu y Li, 1994 |
| | Cixian | 1991 | 10(10) | 93.8 | 28.4-154.9 | ND | | Chu y Li, 1994 |
| Maíz | Lixian | 1989 | 27(13) | 0.87 | <0.10-2.96 | 0.45 | <0.10-0.55 | Yoshiwa <i>et al.</i> , 1994 |
| | Shangqiu | 1989 | 20(5) | 0.89 | <0.10-1.73 | 0.33 | <0.10-0.45 | Yoshiwa <i>et al.</i> , 1994 |
| Charleston, Estados Unidos | | | | | | | | |
| Productos derivados de maíz | Charleston | 1989 | 7(7) | 0.63 | 0.10-1.91 | 0.18 | 0.07-0.46 | Sydenham <i>et al.</i> , 1991 |

BCE= área de baja incidencia de cáncer esofágico.

ACE= área de alta incidencia de cáncer esofágico.

ND= niveles no detectados.

VI- Métodos de análisis de fumonisinas

Los problemas y riesgos asociados con la contaminación de alimentos para consumo animal y humano con fumonisinas han llevado al desarrollo de métodos precisos, seguros, sensibles y reproducibles para la determinación de las fumonisinas en maíz y alimentos derivados de éste. Actualmente se pueden detectar estas toxinas en concentraciones que van de microgramos por gramo (ppm) a nanogramos por gramo (ppb) tanto en productos agrícolas como en alimentos procesados (Shephard *et al.*, 1996). Entre los métodos empleados para la detección y cuantificación de las fumonisinas se encuentran la cromatografía de gases, cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), cromatografía en capa fina, espectrometría de masas (Shephard *et al.*, 1996).

Los pasos básicos involucrados en la detección de las fumonisinas son: muestreo, preparación de la muestra, filtración, purificación, concentración, separación, detección, cuantificación y confirmación (Bullerman, 1998).

A.- Muestreo

Las muestras para el análisis de fumonisinas pueden tomarse en el campo, durante la recolección de las cosechas, durante el almacenamiento, y en otros puntos en el procesamiento del maíz. Cada tipo de muestra puede presentar una distribución diferente de la concentración de las toxinas, siendo ésta más heterogénea en las mazorcas de maíz en el campo, que cuando se han mezclado semillas o cuando el maíz ha sido molido (Dickens J.W.). La distribución de la concentración de las fumonisinas en la muestra suele diferir de la concentración de los lotes cuando se emplea un número reducido de muestras. Este hecho ha sido evaluado para determinar la variabilidad asociada entre los pasos de muestreo, preparación de la muestra y análisis de la misma. Se observó que la varianza asociada a cada paso se incrementa conforme aumenta la concentración de fumonisinas, siendo esto similar a lo presentado para las aflatoxinas cuando se

determina su contenido en maíz y cacahuates. Debido a que no hay una recomendación general del tamaño de la muestra adecuada para el análisis de fumonisinas en maíz, se puede sugerir que sea de 1.1 a 4.5 Kg, semejante al empleado para las aflatoxinas en maíz para cuyo análisis hay más datos estadísticos (Whitaker *et al.*, 1998).

Una vez obtenidas la muestras representativas se procede a homogenizar las muestras por medio del proceso de molienda en seco, tomando submuestras que varían su tamaño de 10 a 100 g que son empleadas para la extracción (Bullerman, 1998).

B.- Extracción

La extracción de las fumonisinas se realiza por medio de una mezcla de disolventes con polaridad mayor como metanol-agua (3:1) o acetonitrilo-agua (1:1). El pH en la extracción de fumonisinas en alimentos derivados de maíz es un factor importante, ya que la acidificación tanto de los alimentos como de los disolventes empleados antes de la extracción incrementa la recuperación de las toxinas llegando a detectar hasta 0.1 $\mu\text{g/g}$ en alimentos donde no se había encontrado a la toxina si se extraía en condiciones neutras. La capacidad amortiguadora de varios alimentos elaborados a base de maíz es lo que reduce la eficiencia de la extracción de las fumonisinas. Ajustando el pH a 2.7 en una solución de acetonitrilo al 50% contrarresta esta capacidad amortiguadora y aumenta la recuperación de fumonisinas. Cuando en el alimento se encuentran compuestos que bloquean al grupo amino, estos componentes se pueden hidrolizar por reflujo de la muestra en KOH 1N-acetonitrilo al 50% por una hora. Después se acidifica y se extrae la toxina ya con el grupo amino libre (Murphy *et al.*, 1996).

C.- Purificación

A continuación de la extracción se procede a filtrar los extractos para remover las impurezas sólidas, para posteriormente someter una alícuota del extracto a un proceso de limpieza (purificación) con la finalidad de eliminar las sustancias de interferencia. En este paso se emplean columnas de SPE (extracción de fase sólida)-C₁₈ ó SAX (columnas de intercambio aniónico), de las cuales la última es la más común (Nelson *et al.*, 1993; Shephard *et al.*, 1996, Sinha y Bhatnagar, 1998). Las columnas C₁₈ son fases no polares que permiten la adsorción de compuestos polares como lo son las fumonisinas, sobre una superficie de partículas de sílice. La columna C₁₈ se lava con agua seguida por acetonitrilo/agua (15:85), y se eluye con acetonitrilo/agua (3:1). En el caso de las columnas SAX los aniones que están unidos electrostáticamente a la matriz de la columna son sustituidos por los aniones carboxilo de las fumonisinas. Antes de pasar el extracto que contiene las fumonisinas por esta columna se debe ajustar el pH a 6.0-6.5. La columna se lava con ácido acético al 0.5 o 1% en metanol, y se eluye con metanol/agua (3:1) seguido por metanol.

Para la determinación de fumonisinas (FB₁ y FB₂) en muestras fisiológicas como sangre y orina se emplea la columna SAX. Las muestras de orina son diluidas con agua y metanol antes de su aplicación a la columna. En el caso del plasma, las proteínas se precipitan con metanol, se centrifugan y el sobrenadante es el que se aplica a la columna. Para la extracción de FB₂ se utiliza como disolvente acetonitrilo, debido a que esta toxina es menos polar (Shephard *et al.*, 1992, 1995).

Después del proceso de limpieza se procede a concentrar la muestra lo que se realiza en forma general evaporando el disolvente bajo un flujo de nitrógeno gaseoso, para proceder posteriormente a la detección y cuantificación de las

fumonisininas. Los métodos comúnmente empleados para este propósito se presentan en la tabla 24 (Bullerman, 1998).

D.- Análisis por técnicas cromatográficas

1.- Cromatografía en capa fina

Uno de los primeros métodos para el análisis de fumonisininas fue la cromatografía en capa fina (CCF), la cual fue desarrollada durante el aislamiento de la toxina en cultivos de maíz de *F. moniliforme* MRC 826. La CCF se desarrolla en fase normal (fase polar unida al soporte) en placas de sílica gel empleando una mezcla de disolventes, tal como cloroformo-metanol-agua-ácido acético (55:36:8:1) o cloroformo-metanol-ácido acético (6:3:1). También se puede desarrollar en fase inversa (fase con enlace no polar) en placas de sílica gel (Tabla 24). Una vez que el frente del disolvente se ha dejado emigrar la distancia adecuada, la placa puede visualizarse por aspersion con soluciones de ninhidrina (al 0.2% en metanol) o ρ -anisaldehído [0.5g de ρ -anisaldehído en metanol-ácido acético-ácido sulfúrico (8:10:5)], seguido por calentamiento a 120°C hasta desarrollar color, cuyos reactivos reaccionan con el grupo amino de las fumonisininas (Cawood *et al.*, 1991; Nelson *et al.*, 1993; Shephard, 1998; Sinha y Bhatnagar, 1998). El uso de fluorescamina como reactivo para visualizar las fumonisininas bajo luz UV mejoró la sensibilidad y selectividad de la CPF y permitió ser empleada en la detección de las fumonisininas en alimentos para consumo animal. Este método también se encontró adecuado para la codeterminación de FB₃ en las mismas muestras con FB₁ y FB₂. Los pasos involucrados en este método son: extracción con acetonitrilo-agua (1:1), seguida de una purificación en una columna C₁₈ que se lava con KCl al 1% y acetonitrilo-KCl al 1% (1:9), y elución con acetonitrilo-agua (7:3). El extracto purificado se separa en capa fina, por fase inversa usando metanol al 4%-KCl (4:1) como fase móvil y las toxinas se visualizan por aspersion de una solución buffer de borato de sodio 0.1M y una solución de fluorescamina en acetonitrilo para observar los complejos fluorescentes bajo UV. Aunque el límite de detección fue reportado de 0.1µg/g en

alimentos derivados de maíz de consumo animal, la presencia de interferencias debidas a la matriz del alimento fueron frecuentes en niveles por debajo de 1 $\mu\text{g/g}$. Este problema puede ser reducido si se emplea una columna de SAX y SPE en CCF de fase reversa (límite de detección de 0.25 $\mu\text{g/g}$), visualizando las fumonisinas con una solución de vanilina al 0.5 % en ácido sulfúrico al 97%-etanol (4:1) y calentando a 120°C por 10 min, en donde se desarrolla una banda de color azul-púrpura de FB1 (Shephard *et al.*, 1998; Sinha y Bhatnagar, 1998).

2.- Cromatografía de gases

Para el análisis de fumonisinas por cromatografía de gases se debe realizar hidrólisis alcalina de la toxina y producir derivados trimetilsilil que son volátiles. Este método de separación fue acoplado con espectrometría de masas para la detección de FB₁ en muestras de maíz que presentaban altos niveles de fumonisinas y habían sido asociados con casos de degeneración leucoencéfalica en equinos. Una mejor resolución de FB₁, FB₂ y FB₃ se obtuvo con la formación de derivados trifluoroacetil y la precisión del método de cromatografía de gases-espectrometría de masas fue mejorada por el uso de FB1 marcada con deuterio (D₃), como un estándar interno el cual era adicionado antes de la hidrólisis. El límite de detección para éste método es de 0.01 $\mu\text{g/g}$, aunque no se empleo de rutina, sino para la confirmación de las fumonisinas por el espectro de masas generado (Shephard, 1998; Sinha y Bhatnagar, 1998).

3.- Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)

El análisis de fumonisinas por HPLC es el método de elección por las características de polaridad de la molécula y la posibilidad de formar un derivado fluorescente confiriéndole así una alta sensibilidad al método (Tabla 24). Debido a que las fumonisinas carecen de absorción UV y fluorescencia natural, se requiere hacer una derivatización, es decir, una modificación química covalente en algún grupo funcional, en el caso de éstas toxinas se aprovecha la reactividad del grupo

amino. El primer método para la cuantificación de fumonisinas por HPLC, implicaba la formación de derivados maleil, y su posterior separación por fase reversa con detección UV en 236 nm. El límite de detección para este método es de 10 µg/g. Este método es inadecuado para su uso en muestras de maíz contaminado de forma natural. La sensibilidad fue mejorada por la formación de derivados con fluorescamina, pero esta derivatización resultó en la formación de dos productos (una mezcla en equilibrio de una lactona y su análogo hidrolizado), los que resultaban indeseables. La preparación de derivados con o-ftalaldehído (OPA) en presencia de 2-mercaptoetanol y buffer de boratos en pH 9 a 10, ha sido empleada en muchos laboratorios como método de elección para el análisis cuantitativo de fumonisinas en maíz. Los derivados obtenidos de FB₁, FB₂ y FB₃ pueden ser separados por fase reversa, con elución isocrática (es decir, empleando una mezcla de disolventes polares como el metanol y fosfatos), y detección fluorescente. El límite de detección reportado para este método es de 0.05 µg/g. Los derivados formados con OPA son estables por un periodo de 4 min, después de la preparación, y disminuye la respuesta fluorescente después de 8 min. Este problema se resuelve estandarizando el tiempo (alrededor de 2 min) entre la adición del reactivo y la inyección al cromatógrafo (Shephard, 1998; Sinha y Bhatnagar, 1998). Una forma de incrementar la estabilidad de los derivados es manteniendo el pH entre 8.0 y 8.5 (Rice *et al.*, 1995).

Los derivados formados con naftaleno-2,3-dicarboxaldehído (NDA) en presencia de buffer de boratos al 0.05M (pH 9.5) y cianuro de potasio son fluorescentes (excitación a una λ de 390 nm y un a emisión en una λ de 475 nm) y estables por un periodo de 24 h, permitiendo así la detección de 50 pg de FB₁. El NDA ha sido incorporado como un método para la determinación de FB₁ y FB₂ en leche, donde se ha reportado un límite de detección de 0.005 µg/mL (Maragos y Richard, 1994; Shephard, 1998; Sinha y Bhatnagar, 1998). Otro reactivo empleado para la derivatización de fumonisinas en su análisis en maíz y productos elaborados a base de maíz, se encuentra el 4-fluoro-7-nitrobenzofurazan (NBDF),

cuyo límite de detección es de 0.1 µg/g. La derivatización con 9-fluorenil-metil cloroformato (FMOC) ha sido utilizada para la determinación de fumonisinas en alimentos para roedores, formando derivados que son estables por un periodo de 72 h (límite de detección de 0.2 µg/g). Otro reactivo que también produce derivados estables (48 h) es el 6-amino-quinolil N-hidroxisuccinimidil carbamato, cuyo límite de detección de 0.26 µg/g (Shephard, 1998; Sinha y Bhtanagar, 1998).

4.- Cromatografía de líquidos-espectrometría de masas (CL-EM)

El uso principal del método de CL-EM es la confirmación de la presencia de fumonisinas, tanto en alimentos de consumo humano como animal. Además también se ha empleado para el aislamiento y detección de nuevas fumonisinas (Musser, 1996; Meredith et al., 1996; Trucksess, 1998).

La reciente aplicación de la cromatografía de líquidos acoplada al bombardeo de átomos (FAB) para detección por espectrometría de masas (CL-FAB-EM) y del electrospray a la espectrometría de masas ha permitido la detección de nanogramos de FB1, ya que se generan iones estables con fragmentación limitada. La CL-FAB-EM se ha aplicado para el análisis de muestras de maíz contaminado naturalmente, y cuyo límite de detección es de 0.10 µg/g. En contraste en el método de termospray-espectrometría de masas (TS-EM) se obtienen iones con múltiple fragmentación, mientras que la sensibilidad es buena con el empleo de mezclas de acetonitrilo y agua-acetato de amonio, obteniéndose un límite de detección de 0.002 µg/g (Shephard, 1998; Sinha y Bhatnagar, 1998).

El acoplamiento de detectores como el de dispersión de luz evaporativa (ELSD) y electrospray-espectrometría de masas, ha permitido analizar las fumonisinas de la serie B sin realizar derivatización y separación por HPLC en fase reversa (C₁₈), los cuales emplean un gradiente binario de disolventes (solución A, agua; solución B, acetonitrilo-ácido trifluoroacético a pH 2.7) para el ELSD y

solución A (metanol-agua-ácido acético en la siguiente proporción: 50:50:1) más una solución B (metanol-ácido acético en la siguiente proporción: 100:1) para el análisis por electro spray. El límite de detección para la técnica de ELSD es de 50 µg/g, el cual se considera adecuado para el análisis de fumonisinas en maíz contaminado de forma natural (Plattner, 1995; Plattner *et al.*, 1996; Sinha y Bhatnagar, 1998).

E.- Análisis por técnicas inmunoenzimáticas

Un método alternativo para el análisis de fumonisinas en maíz y productos derivados lo constituyen los ensayos inmunoenzimáticos (ELISA). Para el desarrollo de ensayos inmunoenzimáticos se requiere de la producción de anticuerpos por inmunización de algún animal con la molécula inmunogénica. Debido al bajo peso molecular de la FB₁, se requiere que se conjuge con una proteína acarreadora, para obtener una molécula inmunogénica. Adicionalmente para la producción de anticuerpos generalmente se necesita el uso de un estimulador, no específico de la respuesta inmune, conocido como adyuvante. Los anticuerpos policlonales para FB₁ han sido producidos por inmunización de la FB₁ conjugada a la enterotoxina (CT) producida por *Vibrio cholerae* (Tabla 24). La inmunización fue en ratones que recibieron una dosis de 7.5 µg de FB₁ conjugada con CT, resultando en la producción de anticuerpos específicos contra FB₁, en un período de 15 días cuando se usaron las vías intraperitoneal, subcutánea e intravenosa. En contraste, la inmunización de la FB₁ conjugada con albúmina serica bovina con y sin adyuvante de Freund resultó inefectiva. Los anticuerpos producidos con FB₁-CT fueron incorporados a un ELISA indirecto, cuyo límite de detección fue de 0.1 µg/mL. El antisuero tuvo reacción cruzada con FB₂ (87%) y FB₃ (40%), pero no con la forma hidrolizada de FB₁ (HFB₁), ni con el ácido tricarbálico, sugiriéndose que la región inmunodominante se encuentra cerca de la posición del ácido tricarbálico en C-11 y C-20 de la cadena hidrocarbonada, sitio que es común en FB₁, FB₂ y FB₃ (Azcona-Olivera *et al.*, 1992).

En otro estudio se sugiere la producción de anticuerpos policlonales por medio de la inmunización de conejos con múltiples dosis intracutáneas de FB1 conjugada con KHL, y posterior incorporación a un ELISA directo, obteniéndose así un límite de detección de 0.17 ng/mL (Tabla 26). Estos anticuerpos tienen reacción cruzada con FB₂ (24%) y FB₃ (55%) (Usleber *et al.*, 1994).

La formación de anticuerpos monoclonales se ha logrado por la producción de hibridomas, por fusión de la línea de mieloma Sp-2/O-Ag14 en esplenocitos de ratones inmunizados con FB₁ conjugada con ovoalbúmina o hemocianina (KHL) y la aplicación conjunta del adyuvante completo de Freund (Fukuda *et al.*, 1994). Anticuerpos monoclonales específicos para el producto de hidrólisis de FB₁ se ha conseguido por la fusión de la línea de mieloma Sp-2/O-Ag14 y esplenocitos de ratones inmunizados con 50 µg de HFB₁ conjugada con CT (Tabla 24). Su incorporación a un ELISA directo da como resultado un método rápido y sensibles para el análisis de HFB₁, y en menor grado para HFB₂, HFB₃, y HFB₄. Este método es capaz de cuantificar HFB₁ en maíz en niveles de 5 a 1000 ng/g (Maragos *et al.*, 1996).

El análisis de fumonisinas en otros productos alimenticios, como cerveza, empleando los ensayos inmunoenzimáticos ha dado buenos resultados con una recuperación promedio de 81%, con un coeficiente de variación menor a 4.2%, y en un rango de ensayo de 0-0.1 µg de FB₁/mL de cerveza. El límite de detección para este método es de 0.003 µg de fumonisinas/ mL de cerveza. En este método se presenta reacción cruzada con FB₂ (40%) y FB₃ (100%), siendo imposible identificar la fumonisina responsable de la contaminación en las muestras, por lo que los resultados son reportados como fumonisinas totales (Torres *et al.*, 1998).

La aplicación de los métodos inmunoenzimáticos ha sido sujeta a estudios de comparación, en los cuales se evalúa éste con métodos químicos como la cromatografía en capa fina y la cromatografía de líquidos de alta resolución. Dentro

de los estudios de comparación con la cromatografía en capa fina, Shelby *et al.* (1994) reportaron que ambos métodos son adecuados para el análisis rápido de fumonisinas en un gran número de muestras. El ELISA en su caso, ofrece una ventaja en términos del tiempo y costo total del análisis, sin embargo se requiere de reactivos (como por ejemplo, anticuerpos poli y monoclonales y peroxidasa de rábano) los cuales no pueden adquiridos inmediatamente, en cambio en la cromatografía en capa fina los reactivos empleados están disponibles inmediatamente para cualquier laboratorio (Shaafsma *et al.*, 1998).

En muchos de los análisis en los que se comparan el ELISA y HPLC, con frecuencia los niveles de fumonisinas detectados en maíz y alimentos derivados de maíz son mayores por ELISA que por HPLC. Este resultado puede ser atribuido a la presencia de análogos de FB₁ que presentan reeacción cruzada con los anticuerpos específicos para FB₁, y que no son detectados por HPLC, también la interacción de productos de descomposición que reaccionan con los anticuerpos en ELISA pero no son detectados por HPLC, además es posible que por la unión de las fumonisinas a la matriz del alimento no sean detectables por HPLC, pero aún son capaces de reaccionar con los anticuerpos del método de ELISA (Sydenham *et al.*, 1996; Castello *et al.*, 1998 a,b; Sinha y Bhatnagar, 1998).

En el análisis inmunoenzimático competitivo directo el antígeno se encuentra fijo en el soporte sólido de la microplaca, a ésta se le adiciona una cantidad conocida de anticuerpo marcado y una cantidad de antígeno no marcado, después de la eliminación de antígeno no unido se mide el anticuerpo marcado unido. En cambio en el ensayo competitivo de tipo indirecto el anticuerpo específico contra las fumonisinas es el que se fija a la microplaca, se adiciona cantidades determinadas de antígeno el cual después de un lavado se le adicionará un segundo anticuerpo que estará marcado, el cual se unirá a los epítomos del antígeno que no estén solapados (Abbas *et al.* 1995).

Tabla 24. Métodos de análisis para fumonisinas por HPLC

| Muestra | Disolventes para la extracción | Purificación | Eluyente | Derivatización | Método de análisis | Fase móvil | Detección | Referencia |
|------------------------------|--|--------------|----------------------------------|----------------|----------------------------|--|--|--|
| Maíz | Acetonitrilo-agua(1:1) Metanol-agua (3:1) | SAX | Ácido acético al 0.5% en metanol | OPA | HPLC en fase reversa (C18) | CH ₃ OH-NaH ₂ PO ₄ (75:25) pH 3.3 | Fluorescencia Excitación 335 nm Emisión 440 nm | Thiel <i>et al.</i> , 1991; Sydenham <i>et al.</i> , 1991, 1992 |
| Maíz | Acetonitrilo-agua(1:1) Metanol-agua (3:1) | C18 | Acetonitrilo-agua (7:3) | OPA | HPLC en fase reversa (C18) | Acetonitrilo-agua-ácido acético (39:60:1) y (60:39:1) | Fluorescencia Excitación 335 nm Emisión 440 nm | Chu y Li, 1994 |
| Maíz | Acetonitrilo-agua(1:1) | C18 | Acetonitrilo-agua (7:3) | NDA | HPLC en fase reversa (C18) | Acetonitrilo-agua-ácido acético (55:45:1) | Fluorescencia Excitación 246 nm Emisión 418 nm | Chu y Li, 1994 |
| Alimentos derivados de maíz | Acetonitrilo-agua(1:1) | C18 | Acetonitrilo-agua (7:3) | OPA | HPLC en fase reversa (C18) | 61% buffer de fosfatos, pH3.3 +39% de acetonitrilo | Fluorescencia Excitación 335 nm Emisión 440 nm | Hopmans y Murphy, 1993 |
| Alimentos derivados de maíz | Metanol-agua (3:1) | SAX | Ácido acético al 0.5% en metanol | OPA | HPLC en fase reversa (C18) | | Fluorescencia Excitación 335 nm Emisión 440 nm | Pittet <i>et al.</i> , 1992 |
| Harina de maíz nixtamalizado | Metanol-EDTA 10 mM (1:1), ajustar pH a 2.5 | C18 | Metanol | NDA | HPLC en fase reversa (C18) | 65% de Acetonitrilo-acético (99:1)+ 35% de agua-ac. Acético (99:1) | Fluorescencia Excitación 280 nm Emisión 470 nm | Dombrink-Kurtman y Dvorak, 1999 |

Tabla 24. (Continuación)

| Muestra | Disolventes para la extracción | Purificación | Eluyente | Derivatización | Método de análisis | Fase móvil | Detección | Referencia |
|---------------|---|--------------|----------------------------------|----------------|----------------------------|--|--|-------------------------------------|
| Leche | Metanol-acetona (1:1) | SAX | Ácido acético al 0.5% en metanol | NDA | Cromatografía de líquidos | 70% de metanol-agua-ac. Acético (75:24:1) + 30% de acetonitrilo-agua-ac. Acético (75:24:1) | Fluorescencia Excitación 250 nm Emisión 470 nm | Maragos y Richard, 1994 |
| Orina | FB1 y FB2, 750 µL de agua + 3 mL de metanol | SAX | Ácido acético al 0.5% en metanol | OPA | HPLC en fase reversa (C18) | Metanol-KH ₂ PO ₄ 0.1M (66:34), pH 3.4 | Fluorescencia Excitación 335 nm Emisión 440 nm | Shephard <i>et al.</i> , 1992, 1995 |
| Heces fecales | FB2, EDTA 0.1 M (pH 5.2)-metanol (4:1) | C18 | metanol | OPA | HPLC en fase reversa (C18) | Metanol-KH ₂ PO ₄ 0.1M (72:28), pH 3.4 | Fluorescencia Excitación 335 nm Emisión 440 nm | Shephard <i>et al.</i> , 1995 |

OPA= o-ftaldialdehído NDA= naftaleno-2,3-dicarboxaldehído

Tabla 25. Métodos de análisis para fumonisinas por cromatografía en capa fina

| Muestra | Disolventes para la extracción | Columna | Eluyente | Método de análisis | Fase móvil | Detección | Referencia |
|-----------------------------|--------------------------------|---------|----------------------------------|---------------------|--|-------------------|------------------------|
| Maíz | Metanol-agua (3:1) | C18 | Acetonitrilo-agua (7:3) | CCF en fase reversa | Acetato de etilo-ac. Acético-agua (60:30:10) | p-anisaldehído-UV | Fadl, 1998 |
| Maíz | Metanol-agua (3:1) | C18 | Acetonitrilo-agua (7:3) | CCF en fase reversa | Cloroformo-metanol-ac. Acético (60:30:10) | p-anisaldehído-UV | Ross et al., 1991 |
| Maíz | Acetonitrilo-agua(1:1) | C18 | Acetonitrilo-agua (7:3) | CCF en fase reversa | Etanol-agua-ac. Acético (65:35:1) | Fluorescamina-UV | Schaafsma et al., 1998 |
| Alimentos derivados de maíz | Metanol-agua (3:1) | SAX | Ácido acético al 0.5% en metanol | CCF | Acetato de etilo-ac. Acético-agua (60:30:10) | p-anisaldehído-UV | Tseng y Liu, 1997 |

CCF= cromatografía en capa fina

Tabla 26. Métodos de análisis por ensayos inmunoenzimáticos (ELISA)

| Tipo de anticuerpos | Conjugación | Adyuvante | Animal inmunizado | No. de inmunizaciones | Hibridoma empleado | Formato de ELISA | Sensibilidad | Referencia |
|---------------------|-----------------|--------------------|-------------------|---------------------------------------|---------------------|-----------------------|------------------|-----------------------------|
| Policlonales | FB1-CT | - | Ratón | 2 por vía i.p. y s.c., 4 por vía i.v. | NE | Competitivo indirecto | 100 ng/mL de FB1 | Azcona-Olivera et al., 1992 |
| Policlonales | FB1-CT | - | Ratón | 3 por vía i.p. | NE | Competitivo indirecto | | Azcona-Olivera et al., 1992 |
| Policlonales | FB1-KHL | Completo de Freund | Conejo | Múltiples por vía i.c. | NE | Directo | 10 ng/mL de FB1 | Usleber et al., 1994 |
| Monoclonales | FB1-Ovoalbumina | Completo de Freund | Ratón | 2 por vía i.p. | Mieloma Sp-2/O-Ag14 | Competitivo indirecto | 10 ng/mL de FB1 | Fukuda et al., 1994 |
| Monoclonales | FB1-KHL | Completo de Freund | Ratón | 2 por vía i.p. | Mieloma Sp-2/O-Ag14 | Competitivo indirecto | 10 ng/mL de FB1 | Fukuda et al., 1994 |
| Monoclonales | HFB1-CT | Completo de Freund | Ratón | | Mieloma Sp-2/O-Ag14 | Directo | 5 ng/mL de HFB1 | Maragos et al., 1996 |

CT= Enterotoxina de *Vibrio cholerae*
KHL= Hemocianina

i.p.= vía intraperitoneal
s.c.= vía subcutánea

(-)=adyuvante no empleado I.v.=vía intravenosa
NE=no se requiere para su producción i.c.=vía intracutánea

VII- Estrategias de reducción del contenido de fumonisinas en maíz y alimentos derivados

A. Métodos empleados en la reducción de fumonisinas en maíz en condiciones de campo

1a.- Métodos biológicos en la pre-cosecha

Se ha observado que líneas de maíz híbrido y no híbrido muestran una variación en la susceptibilidad por la presencia de fumonisinas producidas por *F. moniliforme* debido a la influencia de las condiciones ambientales, como temperatura, humedad y daño por insectos, en un área específica, lo que plantea la posibilidad de elegir variedades de maíz que presenten una mayor resistencia a la infección por *F. moniliforme* y como consecuencia presenten un bajo contenido de fumonisinas (Bacon y Williamson, 1992; Visconti, 1996; Pascale *et al.*, 1997). Un ejemplo de ello es el efecto que tuvo la inserción del gen cry 1 A de *Bacillus thuringiensis* en el genoma de dos híbridos de maíz, obteniéndose una disminución del nivel de FB₁ en el híbrido modificado genéticamente (1.97 µg/g) con respecto al híbrido no modificado (20.05 µg/g), además también hay una reducción de la biomasa fúngica, la cual reflejada en la cantidad de ergosterol presente en el híbrido modificado, 10 µg/g, con respecto al híbrido sin modificar, 35 µg/g (Masoero *et al.*, 1999).

1b.- Métodos biológicos en la post-cosecha

Por otra parte, algunos microorganismos pueden biodegradar un gran número de moléculas orgánicas, incluyendo micotoxinas. Duvick *et al.* (1998) han identificado dos clases de microorganismos que son capaces de metabolizar una porción de la cadena hidrocarbonada de las fumonisinas como única fuente de carbono, produciendo CO₂. Dentro de la primer clase se encuentran dos levaduras, *Exophiala spinifera* y *Rhinoctadiella atrovirens*, las cuales se aíslan con frecuencia de

semillas de maíz en áreas subtropicales y tropicales. La segunda clase la componen bacterias Gram negativas del género *Xanthomonas*, aisladas del tallo de plantas de maíz. Cabe señalar que otras especies de ambas clases de microorganismos, así como cepas aisladas de otros hospederos, no son capaces de metabolizar las fumonisinas.

2.- Métodos químicos

Métodos químicos en los que se emplea tratamiento con amonio a temperatura alta /presión baja (2% de amonio, 1.15 atm, 125 °C por 60 min) reducen el contenido de fumonisinas (de una concentración de 80 µg/g a 18 µg/g) en cultivos sólidos con *F. moniliforme* pero no reducen la toxicidad del material cuando éste se utiliza en el alimento para ratas. Una reducción del 79% del nivel de fumonisinas se logró en maíz después de aplicar amonio en temperatura ambiente/presión alta (2% de amonio, 4.1 atm, 20 °C por 60 min) seguido por alta temperatura/baja presión (2% de amonio, 1.15 atm, 125 °C por 60 min). Sin embargo, no se midió la toxicidad del maíz tratado (Park et al., 1992).

B.- Efecto del procesamiento de alimentos en los niveles de fumonisinas

1.- Métodos químicos

El tradicional proceso para producir masa o tortillas, llamado nixtamalización también ha sido evaluado como un método de destoxificación para FB₁ (Hendrich et al., 1993). Para este estudio se realizó el proceso tradicional: primero se hirvió el maíz (el cual contenía 50µg/g) en agua (proporción 1:3) a la cual se le adicionó una concentración de 1.2 % de hidróxido de calcio. El tiempo de cocción fue de 1 hora en una temperatura de 80-100 °C. Después del tiempo de cocción el agua se eliminó y se procedió hacer 3 lavados. En el producto final se obtuvo una reducción del nivel de FB₁ a 0.4 µg/g y una concentración de la forma hidrolizada de FB₁ de 10 µg/g. Por lo tanto, aunque el tratamiento alcalino con hidróxido de calcio reduce la cantidad de FB₁, se genera la forma hidrolizada, HFB₁,

que conserva la misma actividad biológica cuando se alimenta a ratas con este material (Jackson et al., 1996 c). Dombrink-Kurtzman *et al.* (2000) de igual forma encontraron una disminución significativa del contenido de fumonisinas en maíz contaminado de forma natural (8.79 $\mu\text{g/g}$ de FB_1) después de someterlo al proceso de nixtamalización (0.50 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 y 0.36 $\mu\text{g/g}$ de HFB_1). También el contenido de FB_2 (1.97 $\mu\text{g/g}$) se redujo obteniéndose una concentración final de 0.21 $\mu\text{g/g}$ en las tortillas elaboradas con la masa preparada.

2.- Métodos físicos

El tamizado de partículas finas se ha visto que puede reducir el contenido de fumonisinas en un rango de 26 a 69%. El almidón obtenido por el proceso de molienda en húmedo de maíz contaminado naturalmente con FB_1 (13.9 $\mu\text{g/g}$), esta libre de la toxina. En cambio, otras fracciones del proceso contenían FB_1 en las siguientes concentraciones: parte proteica (5.1 a 5.8 $\mu\text{g/g}$), fibra (2.7 a 5.7 $\mu\text{g/g}$) y germen (1.3 a 3.1 $\mu\text{g/g}$). La fibra y la parte proteica requieren por lo tanto otro proceso de descontaminación antes de poderlos utilizar como alimento para animales (Jackson et al., 1996 c).

Alberts et al. (1990) encontraron que la FB_1 es termoestable ya que no hay reducción de su contenido al hervir 500 g de un cultivo de *F. moniliforme* MRC 826 en 500 mL de agua por 30 min, seguido por un proceso de secado en horno a 60°C por 24 h. De manera similar, al aplicar las condiciones del proceso de pasteurización (62°C, 30 min), se observó que tampoco hay una pérdida del contenido de fumonisinas (Maragos y Richard, 1994).

Otros estudios en un sistema acuoso (buffer de citrato-fosfato-borato) han sido realizados para determinar la estabilidad térmica de FB_1 y FB_2 , evaluando el efecto del pH (4, 7, 10) y la temperatura (100 a 235°C) por un periodo de 60 min, eliminando así los problemas de recuperación relacionados a la unión de las fumonisinas con la matriz de los alimentos. Las temperaturas deseadas se obtienen

calentando la solución en un envase de acero inoxidable, a presión, empleando una camisa eléctrica exterior. En estos estudios se obtuvo que la concentración de FB₁ y FB₂ disminuye con el tiempo de proceso, mientras que los niveles de 4 productos de descomposición, dos parcialmente hidrolizados (PHFB₁ y PHFB₂) y dos completamente hidrolizados (HFB₁ y HFB₂), generalmente aumentaban. A pH 10, los productos de descomposición presentes en mayor grado fueron los completamente hidrolizados, mientras que a pH 4 y 7, se encuentran los productos parcialmente hidrolizados. Es interesante notar que tanto FB₁ y FB₂ y sus respectivos productos hidrolizados no se encuentran a pH 4 después de 60 min en temperaturas mayores a 175°C. En general, la FB₁ y FB₂ parecen menos estables a pH 4 y más estable a pH 7. Después de 60 min en temperaturas mayores a 175°C, las concentraciones de ambas fumonisinas se ven disminuidas hasta un 90% a pesar del pH.

Estos estudios confirman que la FB₁ y FB₂ son termoestables, especialmente en pH neutros, en donde los parámetros físicos tal como la temperatura y el tiempo del proceso térmico son factores críticos que afectan la descomposición de estas dos toxinas. En los procesos térmicos en los que se emplean temperaturas menores a 125°C, se podría esperar un efecto marginal en la reducción del contenido de fumonisina. Sin embargo, en procesos cuya temperaturas sean mayores a 150°C se alcanza una pérdida significativa de FB₁ y FB₂ (Jackson *et al.*, 1996 a,b).

Jackson *et al.* (1997) determinaron el efecto de diferentes temperaturas de elaboración de alimentos; tal como en el proceso de freír (190°C por 1-15 min) y horneado (175 y 200°C por 20 min), en el contenido de FB₁ en totopos (10µg/g) y panques de maíz (5µg/g) respectivamente. Con el proceso de horneado en 175 y 200°C se observó una pequeña, pero significativa pérdida de FB₁ en los panques. El porcentaje de retención en los panques horneados a 175°C (83.7+/-3.5%) fue un poco mayor que en panques horneados a 200°C (72.4+/-5.9%). En ambas temperaturas la pérdida de FB₁ en la superficie del panque fue mayor que en el centro. Además no hay presencia de productos de descomposición, por lo que la

pérdida de FB₁ durante el horneado podría ser explicada por una reacción no enzimática, que es iniciada por la formación de una base de Schiff's (Fig. 11). Los requerimientos de esta reacción son: una amina primaria, un azúcar reductor como glucosa, fructosa o lactosa, y agua en un pH >7. Las fumonisinas en presencia de azúcares reductores y agua, cumplen con estos requerimientos (Murphy *et al.*, 1996). En el caso de los totopos se observa que tampoco hay presencia de productos de degradación, y se sugiere nuevamente que la reacción no enzimática es la que causa la pérdida de FB₁.

En este estudio se indica que bajo las condiciones en el proceso de freír y horneado, la pérdida de FB₁ es pequeña. Una pérdida substancial de FB₁, puede ocurrir cuando los alimentos son procesados en condiciones extremas (altas temperaturas/tiempos más largos).

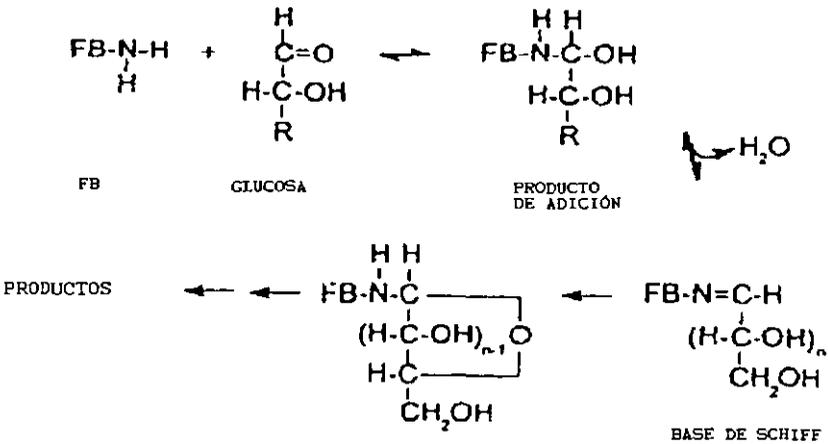


Fig.11 Formación de una base de Schiff's por medio de la reacción del grupo amino de la FB₁ en presencia de un azúcar reductor (Murphy *et al.*, 1996).

Castelo *et al.* (1998 a) determinaron el efecto de los procesos tales como enlatado, horneado y tostado en la estabilidad de las fumonisinas en alimentos (productos enlatados, maíz dulce, mazorcas de maíz completas, papillas para bebés y alimento para perros; productos para hornear, panques y pan de maíz; productos para tostar, harina de maíz) contaminados de forma natural y artificial (5 µg/g de FB₁) empleando dos métodos de análisis, ELISA y HPLC. Las concentraciones de fumonisinas determinadas por ELISA y HPLC en productos procesados como papillas para bebés y alimentos para perros no mostraron una diferencia significativa en la concentración de FB₁ en comparación con los alimentos sin procesar (controles). Una significativa disminución del (9%) en el nivel de la toxina fue observada en el maíz dulce enlatado analizado por ELISA. Mientras que las mazorcas de maíz completas que fueron enlatadas sí mostraron una significativa disminución en el nivel de FB₁ al ser analizado por ELISA y HPLC, obteniéndose una disminución promedio del 15 y 11%, respectivamente.

Los productos horneados elaborados de masa contaminados natural y artificialmente a 204°C no resultaron en una pérdida significativa de la toxina medido por ambos métodos de análisis. Solamente el pan de maíz horneado a 232 °C por 20 min mostró una disminución de los niveles de FB₁ (48%) por ELISA pero no por HPLC. Las muestras de harina de maíz contaminados artificial y naturalmente a 218 °C por 15 min presentaron una completa disminución del contenido de FB₁ por el proceso de calor seco (tostado).

VIII.- Regulación de los niveles de fumonisinas en alimentos destinados para consumo animal y humano

La Administración de Drogas y Alimentos (FDA) es la agencia federal en Estados Unidos de América, responsable de la regulación de productos alimenticios destinados a consumo humano y animal. La FDA es la autoridad que hace valer un número de estatutos aprobados por el Congreso. Entre éstos se encuentra la Ley Federal sobre Alimentos, Medicamentos y Cosméticos (FD&C), y la Ley de Servicios para la Salud pública (Public Health Service Act), las cuales participan en las medidas de seguridad con respecto a aditivos y contaminantes de productos alimenticios (Miller *et al.*, 1996; Sinhna y Bhatnagar, 1998).

Por otra parte el Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN) regula una amplia variedad de alimentos para consumo humano, mientras que el Centro de Medicina Veterinaria (CVM), garantiza la seguridad de alimentos derivados de animales, así como aditivos y contaminantes que pueden estar presentes en productos como leche, carne y huevo que son de consumo humano.

Las regulaciones de la FDA son publicadas anualmente por la Government Printing Office, en el Título 21, del Código de Controles Federales (CFR). Las micotoxinas son reguladas en la Sección 402 (a)(1) de la FD&C, y ya se encuentran incluidas las fumonisinas (Miller *et al.*, 1996; Sinhna y Bhatnagar, 1998).

Niveles de fumonisinas permitidos en alimentos destinados para consumo animal

Los niveles más altos de contaminación de fumonisinas se han reportado en productos agrícolas, principalmente en maíz. Este cereal es el muy importante en los Estados Unidos, la mayor parte de la producción (60 a 70%) es destinada para alimentos de consumo animal. Por lo que es importante realizar un monitoreo de la concentración de estas toxinas para que no rebasen los niveles permitidos. La FDA ha implantado niveles guía para las fumonisinas en alimentos para animales, como un mecanismo para ayudar a prevenir las enfermedades causadas por estas

toxinas y cooperar en el control de niveles residuales de fumonisinas en alimentos derivados de animales.

En 1993, el Comité de Micotoxinas de la Asociación Americana de Laboratorios de Diagnóstico Veterinario (AAVLD) recomendó niveles guía de fumonisinas en alimentos para caballos, cerdos, aves de corral y beef cattle, y en junio del 2000 la FDA amplió la información sobre los niveles de fumonisinas permitidos en maíz y alimentos derivados de éste para consumo de otras especies, los cuales están indicados en la Tabla 27, además también se presentan los niveles de aflatoxinas en estos alimentos (Miller *et al.*, 1996; Sinhna y Bhatnagar, 1998, I, II, III).

La FDA participa en conjunción con el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) y varios Departamentos de Toxicología Veterinaria, en la formación de un grupo de trabajo para coordinar la información recopilada (Sinha y Bhatnagar, 1998). Las fumonisinas fueron incluidas en el Programa de Contaminación de Alimentos para alimentos de consumo animal en los años de 1993 y 1994. En dicho programa se detectaron niveles menores a 10 µg/g de fumonisinas, concluyéndose que no representaron un problema grave en los Estados Unidos en este producto agrícola. Actualmente se continúan monitoreando los niveles de fumonisinas en productos elaborados a base de maíz (Miller *et al.*, 1996).

En otro estudio realizado en 1994 y 1995 en los Estados Unidos de América, los datos presentados confirman el hecho de que los granos de maíz sin cáscara, fécula de maíz y la harina de maíz son frecuentemente contaminadas por fumonisinas (Sinha y Bhatnagar, 1998).

Tabla 27. Niveles máximos permitidos de fumonisinas en maíz y productos derivados de maíz para consumo animal.

| Especie | Fumonisinis totales (FB ₁ +FB ₂ +FB ₃) (µg/g) | Aflatoxinas totales (AB ₁ +AB ₂ +AG ₁ +AG ₂) (µg/g) |
|--|---|--|
| Equinos y conejos | 5 (no más del 20% en la dieta) | |
| Cerdos y bardo | 20 (no más del 50% en la dieta) | 0.10 |
| Rumiantes, aves de corral y visón, para reproducción | 30 (no más del 50% en la dieta) | |
| Rumiantes mayores de 3 meses de edad para sacrificio y visón destinado para la producción de piel | 60 (no más del 50% en la dieta) | |
| Aves de corral para sacrificio | 100 (no más del 50% en la dieta) | 0.10 |
| Otras especies de animales de campo y animales domésticos (mascotas) | 10 (no más del 50% en la dieta) | 0.02 (ganado vacuno) |
| Ganado vacuno | 50 | 0.10 |

Niveles de fumonisinas permitidos en alimentos para consumo humano

Idealmente, los niveles permitidos de fumonisinas en alimentos para consumo animal deberían proteger tanto la salud animal como la humana. Desafortunadamente estos niveles no permiten definir la exposición de niveles residuales de fumonisinas en alimentos derivados de animales (Miller *et al.*, 1996). La cantidad residual de fumonisinas en tejido animal usualmente sólo está presente en hígado y riñón, siendo el consumo humano de estos tejidos mucho menor que el consumo de tejido muscular (Miller *et al.*, 1996).

Los estudios sobre el metabolismo de las fumonisinas reportan que las cantidades residuales de estas toxinas en tejido animal son bajas. Por ejemplo, cuando se administro una dosis oral de 5 mg de FB₁/kg de peso corporal a vacas, no se detectaron niveles de fumonisinas en la leche producida por éstas. En otro estudio en el cual se analizaron 155 muestras de leche sin pasteurizar ni homogenizar, solamente una contenía niveles detectables de FB₁, cuya concentración fue de 0.001 µg/g. En el mismo estudio, 10 muestras de leche homogenizada contenían menos de 0.005 µg/g de FB₁. Estos estudios sugieren que los niveles de fumonisinas en leche son muy bajos (Miller *et al.*, 1996).

Un estudio sobre el metabolismo de ¹⁴C-FB₁ en gallinas mostró que una dosis de 2 mg/kg de peso corporal no produjo niveles residuales de la toxina en sangre, esófago, molleja, pulmón, bazo, corazón, cerebro, tejido muscular y en ovarios. Solamente se detectaron niveles traza en hígado, buche, intestino delgado y riñón. No hubo cantidades residuales de FB₁ en los huevos puestos por estas gallinas después de 24 de haber administrado la dosis (Miller *et al.*, 1996).

En relación con estos estudios se cree que los niveles residuales de fumonisinas en productos derivados de animales son bajos y no representan un problema de Salud Pública por lo que el mayor riesgo proviene del consumo directo de productos de maíz (Miller *et al.*, 1996).

Para productos derivados de maíz la FDA establece niveles máximos permitidos de fumonisinas, los cuales se presentan en la Tabla 28, en donde también se presenta el nivel de aflatoxinas totales (I).

Tabla 28. Niveles máximos permitidos de fumonisinas en productos derivados de maíz para consumo humano.

| Producto | Fumonisinias totales (FB ₁ +FB ₂ +FB ₃) (µg/g) | Aflatoxinas totales (AB ₁ +AB ₂ +AG ₁ +AG ₂) (µg/g) |
|---|--|--|
| Productos de maíz molido sin germen (maíz fragmentado, fécula de maíz, harina de maíz con un contenido de grasa menor al 2.25% en base a peso seco) | 2 | 0.02 (para todos los productos excepto leche) |
| Productos de maíz molido con germen o parcialmente degerminado (maíz fragmentado, fécula de maíz y harina de maíz con un contenido de grasas mayor a 2.25% en base a peso seco) | 4 | |
| Salvado de maíz molido | 4 | |
| Maíz destinado para la producción de masa | 4 | |
| Maíz destinado para la producción de palomitas | 3 | |

En México sólo se han establecido niveles regulatorios para aflatoxinas, los cuales se encuentran indicados en la Norma Oficial 147-SSA1-1996 para cereales y subproductos, en ésta se indica que sólo se permite un límite de 20 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de aflatoxinas totales en todos los subproductos de cereales excepto para harina de maíz nixtamalizado, el cual es de 12 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ (III).

IX.- Discusión

Las fumonisinas son un grupo de micotoxinas cuya incidencia en maíz y efectos tóxicos se han documentado durante los últimos diez años. Estas toxinas son producidas principalmente por *F. proliferatum* y *F. moniliforme*, siendo esta última especie la que se aísla con una alta frecuencia de granos de maíz.

El hecho de que *F. moniliforme* sea un saprófito, influye en su capacidad de infección, ya que al sobrevivir en los restos de las plantas de maíz incrementa la cantidad de inóculo al que está expuesto la planta. Asimismo otros factores como el daño mecánico, daño por insectos y la presencia de lluvias, favorece la infección del hongo que frecuentemente se refleja en un incremento en la producción de toxinas.

Tanto *F. proliferatum* como *F. moniliforme* no se encuentran solos colonizando maíz, sino que tienen que competir con otros hongos para su establecimiento. Una de las principales especies es *A. flavus*, que es la segunda en aislarse de maíz. Por tanto al compartir un mismo hospedero, en él se observará la presencia de fumonisinas, así como la de otras micotoxinas. Dentro de las más importantes se encuentran las aflatoxinas, tricotecenos (deoxinivalenol y nivalenol), zearalenona y ocratoxinas. Sin embargo, en la mayoría de los casos reportados los niveles de fumonisinas son de 100 hasta 1000 veces mayores que los de otras toxinas.

Por otra parte, las fumonisinas no presentan una relación estructural con las toxinas antes mencionadas, excepto con las fitotoxinas que produce *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici* (TA, TB, TC, TD Y TE). Tanto las fumonisinas como las fitotoxinas producidas por *Alternaria* inhiben la síntesis de esfingolípidos, inhibiendo a la ceramida sintasa, la cual cataliza la condensación de una molécula de base esfingoidea con un ácido graso para formar ceramida y otros esfingolípidos complejos. Este mecanismo de acción podría explicar los múltiples efectos de la toxina en diversas especies animales, como por ejemplo, en caballos,

en donde el tejido afectado es el del cerebro el cual es rico en esfingolípidos complejos. La toxicidad presentada por la toxina puede ser causada por la acumulación de bases esfingoideas, principalmente esfinganina, que es un regulador de muchos eventos celulares, como la proliferación, diferenciación y muerte celular.

Con respecto a las estrategias de control de fumonisinas, el empleo de variedades de maíz que presenten una mayor resistencia a la infección por *F. moniliforme*, es una opción que debe ser evaluada en relación con el costo que involucra. Aunado a ello se requiere la implementación de rigurosos controles de plagas en las cosechas. La degradación biológica basada en la utilización de bacterias (*Xanthomonas*) y levaduras (*Exophiala spinifera* y *Rhinoctadiella atrovirens*) presenta una perspectiva viable y en la cual se han enfocado compañías biotecnológicas. En cuanto al control de fumonisinas durante el almacenamiento, es de particular importancia el control de factores físicos como la humedad y la temperatura, así como el control de roedores.

Debido a que las fumonisinas tienen un enorme impacto sobre la agricultura y el suministro de alimentos, así como en la salud de algunas especies animales, es importante ampliar la información sobre la incidencia de estas toxinas en maíz, principalmente en aquellos países donde este cereal constituye una fuente de alimentación fundamental, como México donde se producen de 14 a 18 millones de toneladas de maíz y se importan cerca de 1 millón de toneladas anuales. La investigación de la incidencia sería enfocada principalmente en épocas de lluvias durante la cosecha, durante el periodo de almacenamiento y en el procesamiento, de manera particular en harina nixtamalizada y tortillas, las cuales son productos de mayor consumo por la población. También es importante determinar su incidencia y los niveles de la toxina en el maíz importado. Es importante también establecer si hay co-incidencia en maíz de las aflatoxinas y fumonisinas y sus posibles efectos sinérgicos.

Aunado a la incidencia, también sería importante el sondeo de las micotoxicosis ocasionadas por *F. moniliforme*, así como el análisis de los alimentos consumidos por los animales expuestos a las toxinas. A la vez se deben monitorear de alteraciones en la relación esfinganina/esfingosina y la elevación de transaminasas como indicadores biológicos de la exposición a las toxinas en los alimentos de consumo animal. De igual forma, es necesario determinar la incidencia de casos de cáncer esofágico y su posible relación con el consumo de alimentos contaminados con fumonisinas, ya que se ha visto que los procesos tumorales son la segunda causa de muerte en México (SSa, 1998). El monitoreo biológico en fluidos y tejidos, en específico sangre y orina, de la relación de esfinganina/esfingosina permitirá una buena estimación de la exposición humana a las toxinas. Este monitoreo es aplicable principalmente en individuos cuya edad fluctuó entre los 40 y 70 años, ya que es la edad de mayor riesgo para procesos tumorales en esófago.

Los datos generados servirán para proponer niveles máximos de tolerancia de fumonisinas en la NOM-147-SSA1-1996, en el rubro de alimentos derivados de maíz, o si así lo requiere, la generación de una Norma Oficial Mexicana específica para estas toxinas.

X.- Conclusiones

♦ Las fumonisinas son un grupo de micotoxinas producidas por algunas especies del género *Fusarium*, tales como *F. moniliforme*, *F. proliferatum* y *F. nygamai*, siendo las dos primeras las más importantes ya que frecuentemente infectan maíz en todo el mundo, produciendo en este cereal, altos niveles de fumonisinas. Sin embargo, *F. moniliforme* es la primera especie que se encuentra en maíz. *F. moniliforme* es capaz de colonizar maíz en todos los estados de desarrollo e invadir así distintos órganos tales como raíz, tallo, mazorca y maíz, ocasionando en la mayoría de los casos pudrición del tejido afectado, teniendo como consecuencia grandes pérdidas económicas.

♦ Las condiciones óptimas de crecimiento de *F. moniliforme* y *F. proliferatum* son en a_w de 0.98-0.994 y 25°C, y 0.994 y 25 a 30°C, respectivamente. El crecimiento de ambas especies durante el almacenamiento de granos de maíz se ve inhibido por *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. flavus* y *Penicillium implicatum*, en a_w de 0.93 a 0.95 y 25°C, mientras que a a_w de 0.98 y 15 a 25°C ambas especies dominan a *A. ochraceus*, *A. flavus* y *Penicillium implicatum*.

♦ Desde su descubrimiento hasta la fecha se han descrito más de 10 fumonisinas, de las cuales la FB₁ es el compuesto más abundante y ubicuo, al cual le siguen la FB₂ y FB₃ que se encuentran con frecuencia como contaminantes naturales en maíz y productos derivados de éste.

♦ Las condiciones óptimas de producción de FB₁ por *F. moniliforme* y *F. proliferatum* son a a_w de 0.956 a 0.968 y 25 a 30°C. La producción de FB₁ por *F. moniliforme* es óptima cuando co-coloniza granos de maíz durante el almacenamiento con *A. niger* y *A. ochraceus* en a_w de 0.95 a 0.98 de 15 a 25°C, y a_w de 0.98 y 25°C, con *A. flavus* y *P. implicatum*. Para *F. proliferatum* las condiciones óptimas de producción de FB₁ son en presencia de *A. niger* y *A. ochraceus* a 15°C y

a_w de 0.98, así como en presencia de *A. flavus* y *P. implicatum* de 15 a 25°C y a_w de 0.95 a 0.98.

♦ Se han demostrado los efectos tóxicos de las fumonisinas tanto en algunas especies de animales como en planta, como su posible asociación con el cáncer esofágico en humanos.

♦ En cuanto a la incidencia de fumonisinas, estas han sido reportadas en los siguientes países:

♣ Canadá, Estados Unidos de América, México, Guatemala, Honduras, Venezuela, Perú, Brasil, Suecia, Inglaterra, Holanda, Alemania, Polonia, Francia, Austria, Hungría, Rumania, Portugal, España, Bulgaria, Italia, China, Japón, Corea, Taiwán, India, Nepal, Tailandia, Filipinas, Indonesia, Nueva Zelanda, Benin, Sudáfrica, Zambia, Gambia, Egipto, Kenia, Botswana y Zimbabwe.

En general, los niveles de fumonisinas se presentan en el siguiente orden: alimentos derivados de maíz para consumo animal (concentraciones de 0.2 a 330 $\mu\text{g/g}$ de FB₁) > productos agrícolas, principalmente maíz (concentraciones de 0.1 a 64.7 $\mu\text{g/g}$ de FB₁) > alimentos derivados de maíz para consumo humano (concentraciones de 0.1 a 16.0 $\mu\text{g/g}$ de FB₁).

♦ Durante el procesamiento de los alimentos derivados de maíz destinados para consumo humano la temperatura es un factor muy importante, ya que en procesos que emplean temperaturas mayores a 150°C se consigue una disminución significativa de los niveles de fumonisinas en el producto final. En el caso de productos como harina nixtamalizada y tortillas, hay una disminución de la concentración de FB₁, sin embargo se produce la forma hidrolizada de la toxina (HFB₁), la cual sigue conservando los efectos tóxicos de la molécula original.

◆ El método de elección para el análisis y cuantificación de fumonisinas en maíz y alimentos derivados es una extracción con solvente orgánico, generalmente acetonitrilo, semi-purificación de la muestra en una columna de intercambio iónico o con una columna C18 y separación por cromatografía de líquidos de alta precisión (HPLC), en columna C18 de fase reversa, usando una fase móvil de acetonitrilo y amortiguador de fosfatos y detección por fluorescencia del derivado obtenido.

XI.- Bibliografía

- ♣ Abbas H.K., Shier W.T., Seo J.A., Lee Y.W. and Musser S.M. (1998) Phytotoxicity and citotoxicity of the fumonisin C and P series of mycotoxins from *Fusarium spp.* *Fungi. Toxicon*, 36, 2033-2037.
- ♣ Akiyama H., Uraroongroj M., Miyahara M., Goda Y. and Toyoda M. (1998) Quantitation of fumonisins in corn by HPLC with o-phthalaldehyde postcolumn derivatization and their identification by LC/MS. *Mycopathologia*, 140, 157-161.
- ♣ Alberts J.F., Gelderblom W.C.A., Thiel P.G., Marasas W.F.O., Van Schalkwyk D.J., and Behrend Y. (1990) Effects of temperature and incubation period on production of fumonisin B₁ by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 1729-1733.
- ♣ Azcona-Olivera J.L., Abouzied M.M., Plattner R.D., Norred W.P., Pestka J.J. (1992) Generation of antibodies reactive with fumonisins B₁, B₂ and B₃ by using cholera toxins as the carrier adjuvant. *Appl. Environ. Microbiol*, 58, 169-73.
- ♣ Bacon C.W. and Williamson J.W. (1992) Interactions of *Fusarium moniliforme*, its metabolites and bacteria with corn. *Mycopathologia*, 117, 65-71.
- ♣ Bane D.P., Neumann E.J., Hall W.F., Harlin K.S., and Slife R.L.N. (1992) Relationship between fumonisin contamination of feed and mystery swine disease. *Mycopathologia*, 117, 121-124.
- ♣ Bennett G.A., Richard J.L., and Eckhoff S.R. (1996) Distribution of fumonisins in food and feed products prepared from contaminated corn. In *Fumonisin in Food*; Jackson L., De Vries J. W., Bullerman L.B., Eds.; Plenum Press: New York, 317-322.
- ♣ Bothast R.J., Bennett G.A., Vancauwenberge J.E., and Richard J.L. (1992) Fate of fumonisin B₁ in naturally contaminated corn during ethanol fermentation. *Appl. Environ. Microbiol*, 58, 233-236.
- ♣ Branham B.E., Plattner R.D. (1993) Alanine is a precursor in the biosynthesis of fumonisin B₁ by *Fusarium moniliforme*. *Mycopathologia*, 124, 99-104.

- ♣ Bullerman L.B. (1998) Fusaria and toxigenic molds other than Aspergilli and Penicillia, Eds. Doyle M.P., Beuchat L.R. and Motville T.J. In Food Microbiology Fundamental and Frontiers. Eds.; ASM Press. United States of America.
- ♣ Cahagnier B., Melcion D., Richard-Molard D. (1995) Growth of *Fusarium moniliforme* and its biosynthesis of fumonisin B₁ on grain of maize. *Lett. Appl. Microbiol.*, 20, 247-251.
- ♣ Cameron B.R. (1995) Procesos malignos del esófago, En: Oncología Práctica, Eds. Cameron B.R., Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, 242-253.
- ♣ Carlile M.J. and Watkinson S.C. (1994) The Fungi, Academic Press.
- ♣ Castellá G., Bragulat M.R., Cabanes F.J. (1996) Mycoflora and fumonisin-producing strains of *Fusarium moniliforme* in mixed poultry feeds and component raw material. *Mycopathologia*, 133, 181-184.
- ♣ Castelo M.M., Sumner S.S. and Bullerman L.B. (1998) Stability of fumonisins in thermally processed corn products. *J. Food Prot.*, 61, 1030-1033.
- ♣ Castellá G., Bragulat M.R., and Cabañes F.J. (1999) Surveillance of fumonisins in maize-based feeds and cereals from Spain. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 4707-4710.
- ♣ Cawood M.E., Gelderblom W.C.A., Vleggaar R., Behrend Y., Thiel P.G., and Marasas W.F.O. (1991) Isolation of the fumonisin mycotoxins: A quantitative approach. *J. Agric. Food Chem.*, 39, 1958-1962.
- ♣ Chu F.S., Li G.Y. (1994) Simultaneous occurrence of FB1 and other mycotoxins in moldy corn collected from the people's Republic of China in regions with high incidences of esophageal cancer. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 847-852.
- ♣ Chulze S.N., Ramirez M.L., Farnochi M.C., Pascale M., Visconti A., and March G. (1996) *Fusarium* and fumonisin occurrence in Argentinian corn at different ear maturity stages. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 2797-2801.
- ♣ Colvin B.M. and Harrison L.R. (1992) Fumonisin-induced pulmonary edema and hydrothorax in swine. *Mycopathologia*, 117, 79-82.
- ♣ De Nijs M., Van Egmond H.P., Nauta M., Rombouts F.M., Notermans S.H. (1998) Assessment of human exposure to fumonisin B₁. *J Food Prot.*, 61, 879-84.

- ♣ Desjardins A.E., Manandhar H.K., Plattner R.D., Manandhar G.G., Poling S.M., Maragos C.M. (2000) Fusarium species from nepalese rice and production of mycotoxins and gibberellic acid by selected species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 1020-1025.
- ♣ Desjardins A.E., Plattner R.D., Proctor R.H. (1996) Linkage among genes responsible for fumonisin biosynthesis in *Gibberella* population A. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 2571-2576.
- ♣ Desjardins A.E., Plattner R.D., Nelson P.E. (1994) Fumonisin production and other traits of *Fusarium moniliforme* strains from maize in Northeast of Mexico. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 1695-1697.
- ♣ Desjardins A.E., Plattner P.D., Shackelford D.D., Lesli J.F. and Nelson P.E. (1992) Heritability of fumonisin B₁ production in *Gibberella fujikuroi* mating population A. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 2799-2805.
- ♣ Desjardins A.E., Plattner R.D., Nelsen T.C. and Leslie J.F. (1995) Genetic analysis of fumonisin production and virulence of *Gibberella fujikuroi* mating population A (*Fusarium moniliforme*) on maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Appl. Environ. Microbiol.*, 79-86.
- ♣ Desjardins A.E., Plattner R.D., Lu M., and Claflin L.E. (1998) Distribution of fumonisins in maize ears infected with strains of *Fusarium moniliforme* that differ in fumonisin production. *Plant Disease*, 82, 953-958.
- ♣ Desjardins A.E., Plattner R.D., and Nelson P.E. (1997) Production of fumonisin B₁ and moniliformin by *Gibberella fujikuroi* from rice from various geographic areas. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, 1838-1842.
- ♣ Díaz Z.J.C. y Hicks J.J. (1995) Bioquímica, Edit. Interamericana, México.
- ♣ Dickens J.W. (1987) Sampling and detection techniques for aflatoxin in maize. In: Aflatoxin in Maize, México, 92-99.
- ♣ Doko M.B., Visconi A. (1994) Occurrence of fumonisin B₁ and B₂ in corn and corn-based human foodstuffs. *Food Addit. Contam.*, 11, 433-439.

- ♣ Doko M.B., Rapior S., Visconti A., and Schjøth J.E. (1995) Incidence and levels of fumonisin contamination in maize genotypes in Europe and Africa. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 429-434.
- ♣ Dombrinck- Kurtzman M.A. and Dvorak T.J. (1999) Fumonisin content in masa and tortillas from México. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 622-627.
- ♣ Duncan K., Kruger S., Zabe N., Kohn B., Prioli R. (1998) Improved fluorometric and chromatographic methods for the quantification from FB1, FB2 and FB3. *J Chromatogr A*, 815, 41-47.
- ♣ Duvick J., Rood T., Maddox J., and Gilliam J. (1998) Detoxification of mycotoxins in planta as a strategy for improving grain quality and disease resistance: identification of fumonisin-degrading microbes from maize. In *Molecular Genetics of Host-Specific Toxins in Plant Disease*, 369-381.
- ♣ Fadl E.M. (1998) Occurrence and toxigenicity of *Fusarium moniliforme* from freshly harvested maize ears with special references to fumonisin production in Egypt. *Mycopathologia*, 140, 99-103.
- ♣ Fukuda S., Nagahara A., Kikuchi M., and Kumagai S. (1994) Preparation and characterization of α -fumonisin monoclonal antibody. *Biosci Biotech Biochem*, 58, 765-767.
- ♣ Gelderblom W.C.A., Marasas W.F.O., Vleggaar R., Thiel P.G. and Cwood M.E. (1992) Fumonisin: isolation, chemical characterization and biological effects. *Mycopathologia*, 117, 11-16.
- ♣ Griffin D.H. (1994) *Fungal Physiology*. Wiley-Liss. United States of America.
- ♣ Groves F.D., Zhang L., Chang Y.S., Ross P.F., Casper H., Norred W.P., You W.C., and Fraumeni J.F. (1999) *Fusarium* mycotoxins in corn and corn products in a high-risk area for gastric cancer in Shandong Province, China. *J. AOAC Int.*, 82, 657-662.
- ♣ Hendrich S., Miller K.A., Wilson T.M. and Murphy P.A. (1993) Toxicity of *Fusarium proliferatum* fermented nixtamalized corn-based diets fed to rats: Effect of nutritional status. *J. Agric. Food Chem.*, 41, 1649-1654.

- ♣Hopmans E.C. and Murphy P.A. (1993) Detection of Fumonisin B₁, B₂ and B₃ and hydrolyzed fumonisin B₁ in corn-containing foods. *J. Agric. Food Chem*, 41, 1655-1658.
- ♣Jackson M.A., and Bennett G.A. (1990) Production of fumonisin B₁ *Fusarium moniliforme* NRRL 13616 in submerged culture. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 2296-2298.
- ♣Jackson L.S., Hlywka J.J., Senthil K.R., Bullerman L.B., and Musser S.M. (1996b) Effects of time, temperature, and pH on the stability of fumonisin B₁ in an aqueous model system. *J. Agric. Food Chem*, 44,906-912.
- ♣Jackson L.S., Hlywka J.J., Senthil K.R., Bullerman L.B., and Musser S.M. (1996a) Effects of thermal processing on the stability of fumonisin B₂ in an aqueous model system. *J. Agric. Food Chem*, 44, 1984-1987.
- ♣Jackson L.S., Katta S.K., Fingerhut D.D., De Vries J.W., and Bullerman L.B. (1997) Effects of baking and frying on the fumonisin B₁ content of corn-based foods. *J. Agric. Food Chem.*, 45,4800-4805.
- ♣Jackson L.S., Hlywka J.J., Senthil K.R., Bullerman L.B. (1996c) Effect of thermal processing on the stability of fumonisins. In *Fumonisin in Food*; Jackson L., De Vries J. W., Bullerman L.B., Eds.; Plenum Press: New York, 345-353.
- ♣Julian A.M., Wareing P.W., Phillips S.L, Medlock V.F., MacDonald M.V., del Rio L.E. (1995) Fungal contamination and selected mycotoxins in pre- and post-harvest maize. *Mycopathologia*, 129, 5-16.
- ♣Kellerman T.S., Marasas W.F.O., Thiel P.G., Gelderblom W.C.A., Cawwood M. and Coetzer J.A.W. (1990) Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of fumonisin B₁. *Ondersteport J. Vet.*, 57, 269-275.
- ♣Leslie J.F., Doc F.J., Plattner R.D., Shackelford D.D., Jonz J. (1992) Fumonisin B₁ production and vegetative compatibility of strains from *Gibberella* mating population A. *Mycopathologia*, 117, 37-45.
- ♣Leslie J.F. (1995) *Gibberella fujikuroi*: available populations and variable traits. *Can. J. Bot.*, 73,suppl. S282-S291.

- ♣ Leslie J.F. (1996) Introductory biology of *Fusarium moniliforme*. Eds. Jakson L., Vries J.W. and Bullerman L.B., In: Fumonisin in Food. Plenum Press, New York, 153-64.
- ♣ Li F.Q., Luo X.Y., and Yoshizawa T. (1999) Mycotoxins (trichothecenes, zearalenone and fumonisins) in cereals associated with human red-mold intoxications stored since 1989 and 1991 in China. *Natural Toxins*, 7, 93-97.
- ♣ Logrieco A., Doko B., Moretti A., Frisullo S. And Visconti A. (1998) Occurrence of fumonisin B₁ and B₂ in *Fusarium proliferatum* infected asparagus plants. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 5201-5204.
- ♣ López M.R., Méndez T.L.S., Hernández H.F., Castañón O.R. (1995) *Micología Médica. Procedimientos Para el Diagnóstico del Laboratorio*. Editorial Trillas. México.
- ♣ Magnoli C.E., Saenz M.A., Chiacchiera S.M. and Dalcero A.M. (1999) Natural occurrence of *Fusarium* species and fumonisin production by toxigenic strains isolated from poultry feeds in Argentina. *Mycopathologia*, 145, 35-41.
- ♣ Marasas W.F., Nelson P.E. et Toussoun (1984) *Toxigenic Fusarium species. Identity and mycotoxicology*. The Pennsylvania State University Press. University Park and London.
- ♣ Marasas W.F.O., Kellerman T.S., Gelderblom W.C.A., Coetzer J.A.W., Thiel P.G. and Van Der Lugt J.J. (1988) Leukoencephalomalacia in horse induced by fumonisin B₁, isolated from *Fusarium moniliforme*. *Ondersteport J. Vet.*, 55, 197-203.
- ♣ Maragos C.M. and Richard J.L. (1994) Quantitation and stability of fumonisins B₁ and B₂ in milk. *J. AOAC Int.*, 77, 1162-1167.
- ♣ Maragos C.M., Plattner P.D., and Miklasz (1996) Determination of hidrolysed fumonisin B₁ (HFB₁) in corn by competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay. *Food Addit. Contam.*, 13, 105-113.
- ♣ Marin S., Sanchis V., Arnau F., Ramos A.J. and Magan N. (1998b) Colonisation and competitiveness of *Aspergillus* and *Penicillium* species on maize grain in the presence of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium prififeratum*. *Int. J. Food Microbiol.*, 45,107-117.

- ♣Marín S., Sanchis V., Rull F., Ramos A.J. and Magan N. (1998c) Colonization of maize grain by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* in the presence of competing fungi and their impact on fumonisin production. *J. Food Prot.*, 61, 1489-1496.
- ♣Marín S., Sanchis V., Vinas I., Canela R., Magan N. (1995b) Effect of water activity and temperature on growth and fumonisins B₁ and B₂ production for *F. proliferatum* and *F. moniliforme* on maize grain. *Lett. Appl. Microbiol.*, 21, 298-301.
- ♣Marín S., Sanchis V., Teixido A., Saenz R., Ramos A.J., Vinas I., Magan N. (1996) Water and temperature relations and microconidial germination of *Fusarium moniliforme* and *F. proliferatum* from maize. *Can. J. Microbiol.*, 42, 1045-50.
- ♣Marín S., Sanchis V., Magan N. (1995a) Water activity, temperature, and pH effects on growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates of maize. *Can. J. Microbiol.*, 41, 1063-70.
- ♣Marín S., Magan N., Belli N., Ramos A.J., Canela R., Sanchis V. (1999a) Two-dimensional profiles of fumonisin B₁ production by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* in relation to environmental factors and potential for modelling toxin formation in maize grain. *Int. J. Food Microbiol*, 51, 159-167.
- ♣Marín S., Sanchis V., Ramos A.J., Magan N. (1998a) Effect of water activity on hydrolytic enzyme production by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* during colonisation of maize. *Int. J. Food Microbiol.*, 42,185-194.
- ♣Marín S., Sanchis V., Sanz D., Castel I., Ramos A.J., Canela R., and Magan N. (1999b) Control of growth and fumonisin B₁ production by *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* isolates in moist maize with propionate preservatives. *Food Addit. Contam.*, 16, 555-563.
- ♣Masaero F., Maschini M., Rossi F., Prandini A., Pietri A. (1999) Nutritive value, mycotoxin contamination and *in vitro* rumen fermentation of normal and generically modified corn (Cry 1 A (B)) grown in northern Italy. *Maydica*, 44, 205-209.

- ♣ Melcion D., Cahagnier B., Richard-Molard D. (1997) Study of the biosynthesis of fumonisins B₁, B₂ and B₃ by different strain. *Lett. Appl. Microbiol.*, 24, 301-5 .
- ♣ Merrill A.H. Jr., Wang E., Vales T.R., Smith E.R., Schroeder J.J., Menaldino D.S., Alexander C., Crane H.M., Xia J., Liotta D.C., Meredith F.J., Riley R.T. (1996) Fumonisin toxicity and sphingolipid biosynthesis. In *Fumonisin in Food*; Jakson L., De Vries J. W., Bullerman L.B., Eds.; Plenum Press: New York, 297-306.
- ♣ Miller M.A., Honstead J.P., Lovell R.A. (1996) Regulatory aspects of fumonisins with respect to animal feed. In *Fumonisin in Food*; Jakson L., De Vries J. W., Bullerman L.B., Eds.; Plenum Press: New York, 363-8.
- ♣ Moreti A., Bennett G.A., Logrico A., Bottalico A., Beremand M.N. (1995) Fertility of *Fusarium moniliforme* from maize and sorghum related to fumonisin in production in Italy. *Mycopathologia*, 131, 25-9.
- ♣ Munkvold G.P. and Desjardins A.E. (1997) Fumonisin in maize. Can we reduce their occurrence?. *Plant Dis.*, 81, 556-563.
- ♣ Murphy P.A., Rice L.G., and Ross P.F. (1993) Fumonisin B₁, B₂ y B₃ content of Iowa, Winsconsin, and Illinois corn and corn screenings. *J. Agric. Food Chem.*, 41, 263-266.
- ♣ Murphy P.A., Hendrich S., Hopmans E.C., Hauck C.C., Lu Z., Buseman G., and Munkvald G. (1996) Effect of processing on fumonisin content of corn. In *Fumonisin in Food*; Jakson L., De Vries J. W., Bullerman L.B., Eds.; Plenum Press: New York, 323-334.
- ♣ Murray R.K.(1994) *Bioquímica de Harper, El Manual Moderno*, México.
- ♣ Musser S.M. (1996) Quantitation and identification of fumonisins by liquid chromatography/mass spectrometry. In *Fumonisin in Food*; Jakson L., De Vries J. W., Bullerman L.B., Eds.; Plenum Press: New York, 65-71.
- ♣ Musser S.M. and Plattner R.D. (1997) Fumonisin composition in cultures of *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and *Fusarium nygami*. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 1169-1173.
- ♣ Nair M.G.(1998) Fumonisin and human health. *Ann. Trop. Paediatr.*, 18 suppl, S47-52.

- ♣ Nelson P.E., Toussoun T.A., and Marasas W.F.O. (1983) *Fusarium* species. An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University Press. University Park and London.
- ♣ Nelson P.E., Plattner R.D. Shackelford D.D., Desjardins A.E. (1991) Production of fumonisins by *Fusarium moniliforme* strains from various substrates and geographic areas. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 2410-2.
- ♣ Nelson P.E., Plattner R.D., Shackelford D.D., Desjardins A.E. (1992) Fumonisin B₁ production by *Fusarium* species other than *F. moniliforme* in section *Liseola* and by some related species *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 984-9.
- ♣ Nelson P.E., Desjardins A.E., Plattner R.D. (1993) Fumonisin, mycotoxins produced by *Fusarium* species : biology, chemistry and significance. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 31, 233-52.
- ♣ Nelson P.E. (1992) Taxonomy and biology of *Fusarium moniliforme*. *Mycopathologia*, 117, 29-36.
- ♣ Norred W.P., Bacon C.W., Riley R.T., Voss K.A. and Meredith F.I. (1999) Screening of fungal species for fumonisin production and fumonisin-like disruption of shingolipid biosynthesis. *Mycopathologia*, 146, 91-98.
- ♣ Norred W.P., Wang E., Yoo H., Riley R.T. and Merrill A.H. (1992) In vitro toxicology of fumonisins and the mechanistic implications. *Mycopathologia*, 117, 73-78.
- ♣ Park D.L., Rua S.M., Mirocha C.J., Abd-Alla A.M., and Weng C.Y. (1992) Mutagenic potentials of fumonisin contaminated corn following ammonia decontamination procedure. *Mycopathologia*, 117, 105-108.
- ♣ Pascale M., Visconti A., Pronczuk M., Wisniewska H., and Chelkowski J. (1997) Accumulation of fumonisins in maize hybrids inoculated under field conditions with *Fusarium moniliforme* Sheldon. *J. Sci. Food Agric.*, 74, 1-6.
- ♣ Pittet A., Parisod V., and Schellenberg M. (1992) Occurrence of fumonisin B₁ and B₂ in corn-based products from the swiss market. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1352-1354.

- ♣Plattner R.D., Weisleder D., and Poling S.M. (1996) Analytical Determination of fumonisin and other metabolites produced by *Fusarium moniliforme* and related species on corn. In Fumonisin in Food; Jakson L., De Vries J. W., Bullerman L.B., Eds.; Plenum Press: New York, 57-64.
- ♣Prathapkumar H.S., and Bhat R.V. (1997) Natural occurrence of fumonisin B₁ and its co-occurrence with aflatoxin B₁ in indian sorghum, maize, and poultry feeds. *J. Agric. Food. Chem.*, 45, 2170-2173.
- ♣Rice L.G., Ross P.F., and Dejong J. (1995) Evaluation of a liquid chromatographic method for the determination of fumonisins in corn, poultry feed, and *Fusarium* culture material. *J. AOAC Int.*, 78, 1002-1009.
- ♣Rosiles M.R., Bautista J., Fuentes V.O., and Ross F. (1998) An outbreak of equine leukoencephalomalacia at Oaxaca, Mexico, associated with fumonisin B₁. *J. Vet. Med.*, 45, 299-302.
- ♣Ross P.F., Rice L.G., Osweiler G.D., Nelson P.E., Richard J.L. and Wilson T.M. (1992) A review and update of animal toxicoses associated with fumonisin-contaminated feeds and production of fumonisins by *Fusarium* isolates. *Mycopathologia*, 117, 109-114.
- ♣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 *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates associated with Equine Leukoencephalomalacia and a Pulmonary Edema Syndrome in Swine. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 3225-3226.
- ♣Ross P.F., Rice L.G., Plattner R.D., Osweiler G.D., Wilson T.M., Owens D.L., Nelson H.A. and Richard J.L. (1991) Concentrations of fumonisin B₁ in feeds associated with animal health problems. *Mycopathologia*, 114, 129-135.
- ♣Rumbeiha W.K., Ochme F.W. (1997) Fumonisin exposure to Kansans through consumption of corn-based market. *Vet. Hum. Toxicol.*, 39, 220-5.

- ♣Sanchis V., Abadias M., Oncins L., Sala N., Viñas I. and Canela R. (1995) Fumonisin B₁ and B₂ and toxigenic *Fusarium* strains in feeds from the Spanish market. *Int. J. Food Microbiol.*, 27, 37-44.
- ♣Schaafsma A.W. (1998) Analysis of *Fusarium* toxins in maize and wheat using thin layer chromatography. *Mycopathologia*, 142, 107-113.
- ♣Scott P.M., Yeung J.M., Lawrence G.A., Prelusky D.B. (1997) Evaluation of ELISA for analysis of beer for fumonisins. *Food Addit. Contam.*, 14, 445-50.
- ♣Seo J.A., Lee Y.W. (1999) Natural occurrence of the C series of fumonisins in moldy corn. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 1331-4.
- ♣Shelby R.A., Rottinghaus G.E., and Minor H.C. (1994) Comparison of thin layer and competitive immunoassay methods for detecting fumonisin on maize. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 2064-2067.
- ♣Shephard G.S., Thiel P.G., Stokenstrom S., Sydenham E.W. (1996) Worldwide survey of fumonisin contamination of corn and corn-based products. *J. AOAC Int.*, 79, 671-87.
- ♣Shepard G.S., Thiel P.G., Sydenham E.W. (1995) Liquid chromatographic determination of the mycotoxin fumonisin B₂. *J Chromatogr A.*, 692, 39-43.
- ♣Shepard G.S., Thiel P.G., Sydenham E.W. (1992) Determination of fumonisin B₁ in plasma and urine by HPLC. *J Chromatogr*, 574, 299-304.
- ♣Shepard G.S. (1998) Chromatographic determination of the fumonisin mycotoxins. *J. Chromatogr. A*, 815, 31-9.
- ♣Shetty P.H., and Bhat R.V. (1997) Natural occurrence of fumonisin B₁ and its co-occurrence with aflatoxin B₁ in Indian sorghum, maize, and poultry feeds. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 2170-2173.
- ♣Sinha K.K. and Bhatnagar D. (1998) *Mycotoxins in agriculture and food safety*. Marcel Dekker Inc. United States of America.
- ♣Stack M.E. (1998) Analysis of fumonisin B₁ and its hydrolysis product in tortillas. *J. AOAC Int.*, 81, 737-40.

- ♣ Stockenstrom S., Sydenham E.W., Shepard G.S. (1998) Fumonisin B₁, B₂ and B₃ content of commercial unprocessed maize import of Africa from Argentina and the USA during 1992. *Food Addit. Contam.*, 15, 676-80.
- ♣ Sweeney M.J., Dobson A.D.W. (1998) Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *Int. J. Food Microbiol.*, 43, 141-158.
- ♣ 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., Shepard G.S., Thiel P.G., Bird C., and Miller B.M. (1996) Determination of fumonisins in corn: evaluation of competitive immunoassay and HPLC techniques. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 159-164.
- ♣ Sydenham E.W., Shepard G.S., Thiel P.G., Marasas W.F.O., Rheeder J.P., Peralta Sanhueza C.E., González L.H.H., and Resnick S.L. (1993) Fumonisin in Argentinian field-trial corn. *J. Agric. Food Chem.*, 41, 891-895.
- ♣ Sydenham E.W., Shepard 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.
- ♣ Sydenham E.W., Marasas W.F.O., Shephard G.S., Thiel P.G., and Hirooka E.Y. (1992) Fumonisin concentrations in Brazilian feeds associated with field outbreaks of confirmed and suspected animal mycotoxicoses. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 994-997.
- ♣ Tay Z.J. (1995) *Microbiología y Parasitología Médicas*. Méndez Editores. México.
- ♣ Thakur R.A., and Smith J.S. (1996) Determination of fumonisins B₁ and B₂ and their major hydrolysis products in corn, feed, and meat, using HPLC. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1047-1052.
- ♣ Thiel P.G., Shepard G.S., Sydenham E.W., Marasas W.F.O., Nelson P.E., and Wilson T.M. (1991b) Levels of fumonisins B₁ and B₂ in feeds associated with confirmed cases of equine leukoencephalomalacia. *J. Agric. Food Chem.*, 39, 109-111.

- ♣Thiel P.G., Marasas W.F.O., Sydenham E.W., Shepard G.S., Gelderblom W.C.A., and Nieuwenhuis J.(1991a) Survey of fumonisin production by *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 1089-93.
- ♣Thiel P.G., Marasas W.F.O., Sydenham E.W., Shepard G.S. and Gelderblom W.C.A. (1992) The implications of naturally occurring levels of fumonisins in corn for human and animal health. *Mycopathologia*, 117, 3-9.
- ♣Torres M.R., Sanchis V. and Ramos A.J. (1998) Occurrence of fumonisins in Spanish beer analyzed by an enzyme-linked immunosorbent assay method. *Int. J. Food Microbiol.*, 39, 139-143.
- ♣Tseng T.C., Liu C.Y. (1997) Occurrence of fumonisin B₁ and B₂ in corn-based foodstuffs in Taiwan market. *Mycopathologia*, 137, 57-61.
- ♣Tseng T.C., Lee K.L., Deng T.S. Liu C.Y., Huang J.W. (1995) Production of fumonisins by *Fusarium* species of Taiwan. *Mycopathologia*, 130, 117-21.
- ♣Tseng T.C., and Liu C.Y. (1999) Natural occurrence of fumonisins B₁ and B₂ in domestic maize of Taiwan. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 4799-4801.
- ♣Usleber E., Straka M., and Terpian G. (1994) Enzyme immunoassay for fumonisin B₁ applied to corn-based food. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1392-1396.
- ♣Velluti A., Marín S., Bettuci L., Ramos A.J., and Sanchis V. (2000) The effect of fungal competition on colonization of maize grain by *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and *Fusarium graminearum* and on fumonisin B₁ and zearalenone formation. *Int. J. Food Microbiol.*, 59, 59-66.
- ♣Visconti A., Doko M.B. (1994) Survey of fumonisin production by *Fusarium* isolated from cereals in Europa. *J. AOAC Int.*, 77, 546-50.
- ♣Visconti A. (1996) Fumonisin in maize genotypes grown in various geographic areas. In *Fumonisin in Foods.* ; Jakson L., De Vries J. W., Bullerman L.B., Eds.; Plenum Press: New York, 193-204.

- ♣ Voss K.A., Plattner R.D., Riley R.T., Meredith F.I. and Norred W.P. (1998) In vivo effects of fumonisin B₁-producing and fumonisinB₁-nonproducing *Fusarium moniliforme* isolates are similar: Fumonisin B₂ and B₃ cause hepato and nephrotoxicity in rats. *Mycopathologia*, 141, 45-58.
- ♣ Wang E., Norred W.P., Bacon C.W., Riley R.T. and Merrill Jr. A.H. (1991) Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins. *J. Biol. Chem.*, 266, 14486-14490.
- ♣ Warfield C.Y. and Gilchrist D.G. (1999) Influence of Kernel Age on fumonisin B₁ production in maize by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 2853-2856.
- ♣ Whitaker T.B., Trucksess M.W., Johansson A.S., Giesbrecht F.G., Hagler W.M. Jr. Bowman J.(1998) Variability associated with testing shelled corn for fumonisin. *J. AOAC Int.*, 81, 1162-8.
- ♣ Wilkes J.G., Sutherland J.B., Churchwell M.I. Williams A.J. (1995) Determination of fumonisins B₁, B₂, B₃ and B₄ by high-performance liquid chromatography with evaporative light-scattering detection. *J. Chromatogr A*, 695, 319-323.
- ♣ Wilkes J.G., Churchwell M.I., Billedeau S.M., Vollmer D.L., Volmer D.A., Thompson H.C., and Lay J.O. (1996) Determination of underivatized fumonisin B₁ and related compounds by HPLC. . In *Fumonisin in Food*; Jackson L., De Vries J. W., Bullerman L.B., Eds.; Plenum Press: New York.
- ♣ Wood G.E. and Trucksess M.W. (1998) Regulatory control programs for mycotoxin contaminated foods. In *Mycotoxins in agriculture and food safety*. Eds. Marcel Dekker Inc. United States of America.
- ♣ Xu J.R., Leslie J.F. (1996) A genetic map of *Gibberella fujikuroi* mating population A, *Genetics*, 143, 175-89.
- ♣ Yamashita A., Yoshizawa T., Aivra Y., Sanchez P.C., Dizon E.I., Arim R.H. and Sardjono (1995) *Fusarium* mycotoxins (fumonisins, nivalenol, and zearalenone) and aflatoxins in corn from Southeast. *Biosci Biotech Biochem*, 59, 1804-1807.

- ♣Yoshizawa T., Yamashita A., Luo Y.(1994) Fumonisin occurrence in corn from high and low-risk areas for human esophagic cancer of China. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 1626-1629.
- ♣Yoshizawa T., Yamashita A.,Chokethaworn N. (1996)Occurrence of fumonisins and aflatoxins in corn from Thailand. *Food Addit. Contam.*, 13, 163-168.

I.- <http://www.cfsan.fda.gov>

II.- <http://www.micotoxinas.com.tx>

III.- <http://www.sagar.gob.mx>

IV.- <http://www.ssa.gob.mx>