



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

IRRADIACIÓN DE MAÍZ PALOMERO (*Zea mays
everta*) CON LUZ UV-C PARA EL CONTROL DE LA
MICROBIOTA NATURAL

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

ANAID GARCÍA TREJO



DIRECTOR DE TESIS:
M. en C. MARÍA CRISTINA JULIA PÉREZ
REYES

2015

Ciudad Universitaria, D. F.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

CONTENIDO	Página
Índice de contenido	i
Índice de cuadros	iv
Índice de figuras	vi
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	6
1.1 Generalidades sobre el maíz	6
1.1.1 Variabilidad del maíz en México	8
1.2 Descripción del grupo cónico	10
1.3 <i>Zea mays everta</i>	11
1.3.1 Morfología y estructura del grano	15
1.3.2 Importancia económica y producción	16
1.4 Generalidades de hongos	19
1.4.1 Hongos que invaden granos y semillas	23
1.4.2.1 Hongos de campo	24
1.4.2.2 Hongos de almacén	24
1.4.2.3 Hongos de deterioro avanzado	25
1.4.3 Hongos del maíz palomero	25
1.4.4 Métodos de control de hongos	26
1.4.5 Micotoxinas	27
1.5 Generalidades de la luz ultravioleta no ionizante	31
CAPÍTULO II .OBJETIVOS E HIPÓTESIS	35
2.1 Objetivo general	35
2.2 Objetivos particulares	35
2.3 Hipótesis	36
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS	37
3.1 Actividades preliminares	37
3.1.1 Ubicación del experimento	37
3.1.2 Procedencia y colecta de las muestras	37
3.1.3 Investigación de mercado de las muestras a granel	38

3.1.4 Caracterización del tamaño de grano	39
3.2 Determinación de la micobiota	39
3.2.1 Determinación de la micobiota inicial endógena	40
3.2.2 Determinación de la micobiota inicial exógena	42
3.2.3 Aislamiento e identificación de la micobiota	43
3.3 Evaluación del efecto de la luz UV-C sobre la micobiota presente en muestras de grano de maíz palomero	47
3.4 Determinación de micotoxinas	51
3.4.1 Determinación de la concentración de aflatoxinas totales	51
3.4.2 Determinación de la concentración de fumonisinas totales	52
3.5 Efecto de la radiación con luz UV-C sobre las propiedades físicas y sanitarias del grano de maíz palomero	53
3.5.1 Determinación del porcentaje de reventado del grano	53
3.5.2 Determinación de la micobiota en el grano reventado (rosetas)	54
3.5.3 Determinación del contenido de humedad	56
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	58
4.1 Investigación de mercado de las muestras a granel	58
4.2 Caracterización del tamaño de grano	58
4.3 Determinación de la micobiota	62
4.3.1 Hongos de campo	67
4.3.1.1 Registro de las características morfológicas (<i>Alternaria alternata</i> , <i>Bipolaris spicifera</i> , <i>Cladosporium</i> y <i>Drechslera dermatoides</i>)	68
4.3.1.2 Registro de las características morfológicas de las especies de <i>Fusarium</i>	73
4.3.2 Hongos de almacén	77
4.3.2.1 Registro de las características morfológicas de los hongos de almacén	79
4.3.3 Hongos de deterioro avanzado	91
4.3.3.1 Registro de las características morfológicas de los hongos de deterioro avanzado	93
4.4 Efectos de la luz UV-C sobre la micobiota presente en muestras de	

grano de maíz palomero	100
4.5 Determinación de aflatoxinas y fumonisinas presentes en muestras de grano de maíz palomero	104
4.6 Determinación del porcentaje reventado del grano	106
4.7 Determinación de la micobiota en el grano reventado (rosetas)	107
4.8 Determinación del contenido de humedad	109
CONCLUSIONES	111
RECOMENDACIONES	113
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114
ANEXOS	134

ÍNDICE DE CUADROS

Página

CAPÍTULO I

Cuadro 1. Distribución de los complejos raciales de maíz en América ... 8

Cuadro 2. Riesgos a la salud humana producidos por algunas micotoxinas (Elaboración propia 2015. Fuente: Soriano del Castillo *et al.*, 2007) 29

Cuadro 3. Legislación mundial para el contenido de micotoxinas en granos, cereales y alimentos (Elaboración Propia 2015. Fuente: European Union Comments for the Codex Committee on Contaminants in Foods, 2010) 30

CAPÍTULO III

Cuadro 4. Características generales de las muestras evaluadas (Elaboración Propia 2015) 38

Cuadro 5. Diseño experimental y aleatorización de los tratamientos (Elaboración Propia 2015) 48,49

CAPÍTULO IV

Cuadro 6. Resultado de las entrevistas realizadas durante la colección de las muestras a granel 58

Cuadro 7. Dimensiones físicas del grano en las muestras de maíz palomero colectadas en 2012 en D.F. y Área Metropolitana 59

Cuadro 8. Análisis de varianza de las dimensiones físicas evaluadas en muestras de maíz palomero colectados en 2012 en D.F. y Área Metropolitana 59

Cuadro 9. Micobiota presente en muestras de maíz palomero colectadas en 2012 en D.F. y Área metropolitana 63

Cuadro 10. Frecuencias relativas (%) de la presencia de hongos en maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana 66

Cuadro 11. Cuadrados medios del error y probabilidad de presencia de hongos en maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana sometidos a diferentes tratamientos con luz UV-C 101

Cuadro 12. Comparación de medias de presencia de hongos en maíz

palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana sometidos a cuatro tratamientos con tiempos de exposición 0, 5, 10 y 20 minutos ante luz UV-C	102
Cuadro 13. Comparación de medias de presencia de hongos en quince muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana sometidos a diferentes tratamientos con luz UV-C	104
Cuadro 14. Contenido de aflatoxinas y fumonisinas totales presentes quince muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana	105
Cuadro 15. Análisis de varianza para el reventado de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana tratado con luz UV-C durante 0 y 20 minutos	107
Cuadro 16. Análisis de varianza para la micobiota presente en maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana reventado después de ser tratado durante 0 y 20 minutos con luz UV-C	108
Cuadro 16. Prueba de medias para el contenido de humedad en muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana sometido a 2 tratamientos de radiación con UV-C	109

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO I

Figura 1. Distribución de razas de maíz del grupo Cónico	11
Figura 2. Grupos de maíz basados en la textura del grano (Modificado de Reyes, 1990)	15
Figura 3. Tendencia de producción del maíz palomero en México (Elaboración Propia 2015. Fuente: www.siap.gob.mx)	18
Figura 4. Fases de crecimiento fúngico y síntesis de micotoxinas (Fuente: Soriano del Castillo <i>et al.</i> , 2007)	27

CAPÍTULO III

Figura 5. Entrevista no formal para la procedencia a granel (Elaboración Propia 2015)	39
Figura 6. Preparación de los medios de cultivo para la determinación de la micobiota inicial	39
Figura 7. Distribución al azar de las muestras para la determinación de la micobiota inicial	40
Figura 8. Lavado de los granos antes de la siembra	41
Figura 9. Técnica de siembra en la Campana de Flujo Laminar	42
Figura 10. Elaboración de preparaciones montadas en alcohol polivinílico y lactofenol	46
Figura 11. Etiquetado de sobres para la disposición de las muestras	49
Figura 12. Tratamiento de los granos de maíz palomero en el prototipo radiador	50
Figura 13. Procedimiento para la determinación de aflatoxinas totales ...	52
Figura 14. Procedimiento para la determinación de fumonisinas totales ..	53
Figura 15. Prueba de reventado del maíz palomero	54
Figura 16. Preparación de las cajas Petri por el método de papel secante	55
Figura 17. Siembra de las rosetas de maíz palomero	55
Figura 18. Secado de las muestras en la estufa de convección por gravedad	56

Figura 19. Comparación de medias en las dimensiones físicas del grano de maíz palomero: (a) largo, (b) ancho y (c) espesor	60
Figura 20. Caracterización en 3D de las dimensiones físicas de grano en muestras de maíz palomero colectadas en 2012 en D.F. y Área Metropolitana	61
Figura 21. Micobiota inicial total presente en muestras de maíz palomero colectadas en 2012 en el D.F. y Área metropolitana	63
Figura 22. Colonias de <i>Alternaria alternata</i> en PCA y V8 (8 días)	68
Figura 23. Tipos de conidios de <i>Alternaria alternata</i> (izquierda: esquema tomado de Neergaard, 1945; derecha: preparaciones en lactofenol, 100X-PCA; abajo: cadenas de conidios, lactofenol 40X-PCA)	69
Figura 24. <i>Bipolaris spicifera</i> (características microscópicas: 40X-lactofenol)	70
Figura 25. <i>Cladosporium</i> sp. (izquierda: colonia sobre roseta de maíz palomero, centro: 0.5X-PDA, derecha: 40X-lactofenol)	70
Figura 26. <i>Drechslera dermatioidea</i> (izquierda: 10X-lactofenol, centro: 40X-lactofenol, derecha: 40X-lactofenol)	71
Figura 27. <i>Fusarium graminearum</i> (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 40X-alcohol polivinílico, centro: 40X-alcohol polivinílico, derecha: 100X-alcohol polivinílico)	74
Figura 28. <i>Fusarium proliferatum</i> (arriba: características macroscópicas, centro: características microscópicas, 40X-alcohol polivinílico, abajo izquierda 20X-alcohol polivinílico, centro y derecha 40X-alcohol polivinílico)	75
Figura 29. <i>Fusarium subglutinans</i> (arriba: características macroscópicas, centro: características microscópicas, 100X-alcohol polivinílico, abajo izquierda 40X-alcohol polivinílico, centro y derecha 100X-alcohol polivinílico)	76
Figura 30. <i>Fusarium verticillioides</i> (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 10X-alcohol polivinílico,	

centro: 40X-alcohol polivinílico, derecha 40X-alcohol polivinílico)	77
Figura 31. <i>Aspergillus candidus</i> (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 2X-CZ, centro: 10X-alcohol polivinílico, derecha: 20X-lactofenol)	80
Figura 32. <i>Aspergillus flavus</i> (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 2X-PDA, centro: 2X-CZ, derecha: 20X-alcohol polivinílico)	81
Figura 33. <i>Aspergillus ochraceus</i> (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 10X-lactofenol, centro: 40X-alcohol polivinílico, derecha: 40X-lactofenol)	82
Figura 34. <i>Aspergillus parasiticus</i> (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 10X-alcohol polivinílico, derecha: 40X-lactofenol)	83
Figura 35. <i>Aspergillus versicolor</i> (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 40X-lactofenol, derecha: 100 X-lactofenol)	84
Figura 36. <i>Eurotium chevalieri</i> (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 40X-alcohol polivinílico, centro: 100X-alcohol polivinílico, derecha: 100X-alcohol polivinílico)	85
Figura 37. <i>Eurotium rubrum</i> (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 10X-alcohol polivinílico, centro, arriba: 20X-a. polivinílico, centro, abajo: 40X-a. polivinílico, derecha: 100X-lactofenol fuccia)	86
Figura 38. <i>Penicillium aurantiogriseum</i> (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda y centro: 40X-alcohol polivinílico, derecha 100X-alcohol polivinílico)	87
Figura 39. <i>Penicillium brevicompactum</i> (arriba: características macroscópicas, abajo: izquierda colonia sobre roseta, centro: 40X-azul algodón, derecha 100X-alcohol polivinílico)	88
Figura 40. <i>Penicillium crysogenum</i> (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 40X-	

azul algodón, centro: 40X-alcohol polivinílico, derecha 100X-alcohol polivinílico)	90
Figura 41. <i>Penicillium expansum</i> (arriba: características macroscópicas, centro: izquierda colonia sobre roseta, derecha: 40X-alcohol polivinílico, abajo: izquierda 40X-azul algodón, derecha 100X-alcohol polivinílico) ...	91
Figura 42. <i>Aspergillus awamori</i> (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 40X-lactofenol, derecha: 20X-lactofenol)	94
Figura 43. <i>Aspergillus clavatus</i> (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 10X-lactofenol, centro: 40X-lactofenol, derecha: 40X-alcohol polivinílico)	95
Figura 44. <i>Aspergillus niger</i> (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 2X-CZ, centro: 10X-alcohol polivinílico, derecha: 40X-lactofenol)	96
Figura 45. <i>Chaetomium</i> sp.(arriba: colonia sobre grano de maíz palomero, abajo: características microscópicas, izquierda: 10X-azul algodón, centro: 40X-azul algodón, derecha: 100X-azul algodón)	97
Figura 46. <i>Mucor</i> sp. (izquierda: características macroscópicas, derecha: características microscópicas, 10X-azul algodón)	97
Figura 47. <i>Paecilomyces</i> sp. (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 40X-azul algodón, centro: 40X-alcohol polivinílico, derecha 10X-azul algodón)	99
Figura 48. <i>Rhizopus</i> sp. (arriba: características macroscópicas, abajo: izquierda 100X-azul algodón, derecha 40X-alcohol polivinílico)	100
Figura 49. Efecto de cuatro tratamientos de luz uv-C en la microbiota de muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana	103
Figura 50. Prueba de reventado en maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana tratado con luz uv-C durante 0 y 20 minutos ...	107
Figura 51. Comparación de medias del porcentaje de presencia de microbiota de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área	

Metropolitana reventado después de ser tratado durante 0 y 20 minutos con luz uv-C	108
Figura 52. Contenido medio de humedad en muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana sometido a 2 tratamientos de radiación con uv-C	110
Figura 53. Almacenamiento de la microbiota natural de muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana en aceite mineral	147
Figura 54. Almacenamiento de la microbiota natural de muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana en agua destilada	148
Figura 55. Almacenamiento de la microbiota natural de muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana en gel de sílice	149
Figura 56. Almacenamiento de la microbiota natural de muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana en tierra estéril	150
Figura 57. Disposición final del material biológico	150

RESUMEN

El maíz palomero por su volumen de producción en México, se considera un cultivo menor ya que solo se produce el 3% de consumo nacional y el resto se importa de Estados Unidos de América. Su uso principal desde los años cincuenta hasta hace un par de décadas había sido para consumo humano en la forma de rosetas o palomitas de maíz, sin embargo, en la actualidad se ha empleado este grano en la industria alimentaria como edulcorante por lo que resulta importante conocer la calidad sanitaria de este producto ya que la invasión de los granos y semillas por diversos microorganismos durante su desarrollo en el campo, así como también durante el proceso de almacenaje, es un problema muy común, siendo los hongos los más abundantes y principal causa de diversos daños pudiendo representar un riesgo para la salud humana debido a que algunas especies son potencialmente productoras de micotoxinas. En este trabajo se realizó la determinación de la micobiota asociada de forma natural de 15 muestras de maíz palomero a granel, envasado e industrializado, procedente de diferentes centros de distribución en México. Todas las muestras de maíz palomero presentaron contaminación encontrándose un total de 4277 aislamientos correspondientes a 26 especies de hongos, pertenecientes a los géneros *Alternaria*, *Bipolaris*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Eurotium*, *Penicillium*, *Chaetomium*, *Mucor*, *Paecilomyces* y *Rhizopus*, siendo los hongos de almacén y de deterioro avanzado los que presentaron un mayor porcentaje de incidencia (4.59 y 2.6 respectivamente).

Una vez determinada la calidad sanitaria en las muestras de maíz palomero se irradiaron con luz UV-C (no ionizante) en un prototipo radiador de UV-C a 254nm de longitud de onda con una intensidad de 65.2 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$ empleando cuatro tiempos de exposición 0, 5, 10 y 20 minutos. El tratamiento de 20 minutos fue el más efectivo presentando un porcentaje de reducción de 57.6%. Se realizó una prueba de reventado de los granos a 185°C durante 50 segundos por repetición, encontrando un aumento significativo del 2.4% en el reventado de los granos

tratados durante 20 minutos con UV-C respecto de los granos no tratados, también se encontró que el contenido de humedad se reduce significativamente con la irradiación en un 20.5%, lo que podría explicar el aumento del reventado.

Se realizó también mediante el método de inmunoafinidad por columnas de anticuerpos monoclonales la determinación de aflatoxinas y fumonisinas totales encontrándose que de las 15 muestras evaluadas el 73.33% tuvieron una presencia de aflatoxinas en un intervalo de 2-38 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, mientras que el 100% de las muestras presentaron fumonisinas en un intervalo entre 380-2600 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

INTRODUCCIÓN

El maíz es uno de los cultivos más importantes en América, sembrado a lo largo de todo el continente desde las regiones secas con una precipitación media inferior a 400 mm hasta las regiones con precipitación superior a 4,000 mm. Hay una gran variedad de tipos de maíz y en la actualidad es consumido a nivel mundial de diversas formas, como verdura, en elote, el grano seco en diferentes modalidades; sin embargo, en los países desarrollados el maíz es un componente importante de muchos alimentos, bebidas y productos industriales. Se ha calculado que en los supermercados modernos, cerca de 2,500 productos contienen maíz en alguna forma (Perales, 2009). El maíz palomero además de su popular uso como rosetas o palomitas, también es utilizado como materia prima en muchos otros productos y en años recientes se ha popularizado su uso como edulcorante natural en productos de panificación y pastelería, cereales, bebidas de frutas y helados (Narváez *et al.*, 2006).

El principal mercado consumidor del maíz palomero es Estados Unidos, seguido por Brasil. En México su consumo se estima en 30 a 40 mil toneladas al año, siendo nuestro país productor de menos del 3% del consumo nacional, 2,358.14 toneladas según lo reportado por el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2015), por lo que el volumen restante se importa en su mayoría de Estados Unidos (Ziegler, 2001). Los principales estados productores de maíz palomero son Illinois, Indiana, Iowa, Kansas, Kentucky, Michigan, Missouri, Nebraska y Ohio (US Popcorn Board, 2015).

Los factores que influyen en la calidad de las palomitas de maíz incluyen, la humedad del grano, el proceso de producción, almacenamiento y manejo del grano (Serratos *et al.*, 2001). Un almacenamiento inadecuado (en cuanto a humedad, temperatura, ventilación, incidencia de luz, entre otros) provoca alteraciones físico químicas del grano, que predisponen al desarrollo de diversos hongos con participación de especies únicas o en combinación de ellas

(Hassaneín, 2009), siendo los géneros más frecuentemente involucrados *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Eurotium*, organismos potencialmente productores de diversas micotoxinas, las cuales representan un problema tanto a nivel industrial como de salud. Este problema es más evidente en regiones tropicales y subtropicales, debido a las características climatológicas, que favorecen la colonización, deterioro y síntesis de estos metabolitos secundarios (Robens, 2002).

El desarrollo de los hongos en los granos de cereales puede ser controlado por métodos físicos y químicos. Los ácidos orgánicos como el propiónico, acético, butírico y fórmico pueden ser usados por su actividad fungicida como preventivo químico de los hongos en granos con alto contenido de humedad (20 a 35%) pero en algunas ocasiones en concentraciones altas puede modificar las características organolépticas de los granos destinados como materia prima para la elaboración de alimentos para consumo humano e incluso reducir la germinación de las semillas como lo reportado por Moreno et al., (2000). Otra opción del uso de métodos físicos para el control de los hongos de almacén, es reducir la humedad relativa y temperatura de los granos, dentro de márgenes razonables y económicos en cereales como el maíz de acuerdo con lo propuesto por la Norma Oficial Mexicana que recomienda 13.5 a 14%. La limpieza adecuada del producto al llegar al centro de acopio o almacenamiento es otra medida indispensable para prevenir y controlar los hongos.

En México el desarrollo de la tecnología de este sector está ubicado en dos áreas principales, el tratamiento de la harina de maíz y de los alimentos a base de maíz, contrario a la tendencia mundial en el control alternativo desde el campo. Es muy poco el presupuesto que se invierte en investigación con respecto al almacenaje de los granos y al control alternativo de las enfermedades y plagas (Serratos, 2012). Actualmente es conocido que el uso de tratamientos con sustancias químicas causa problemas ecológicos, además de ser perjudiciales para el ser humano, por lo que se considera importante el desarrollo de métodos de control

alternativos y seguros como el uso de la radiación con luz UV-C (no ionizante), el cual confiere varias ventajas, entre ellas que es un método no destructivo (Kwan-Hoong, 2003). En el caso del maíz palomero donde uno de los productos principales de consumo final es la roseta o palomita, resulta innovador éste tipo de tratamientos ya que permiten conservar tanto la calidad como las propiedades del reventado.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1 Generalidades del maíz

El maíz es el cultivo de mayor presencia en nuestro país, desde el punto de vista alimentario, económico, político y social (Hernández, 2010), en México el maíz ha sido uno de los productos agrícolas de mayor importancia desde la antigüedad, tan sólo en nuestro país, se han identificado al menos 600 formas de preparar el maíz en la alimentación. Se han encontrado vestigios arqueológicos de su cultivo en Guila Naquitz en el Valle de Oaxaca y en Tehuacán, Puebla que datan de hace más de 6 mil años, mientras que otros estudios muestran rastros de la domesticación del maíz desde hace aproximadamente 8 mil años (Benz, 2006).

Se ha discutido mucho acerca del centro de origen del maíz, muchos coinciden en nombrar a México como primera opción, algunos otros mencionan a Guatemala como segunda opción (Wilkes y Goodman, 1995). Aunque la mayoría está de acuerdo en proponer a nuestro país como el centro de domesticación. Las investigaciones sobre el origen del maíz en el tiempo señalan que apareció, entre los años 9000 y 5000 AC, en la región Mesoamericana, siendo la evidencia arqueológica más antigua sobre el uso del maíz en el altiplano datada de hace 6,250 años.

A diferencia de las plantas silvestres, el maíz estuvo sujeto a un proceso complejo de domesticación desarrollado a la par de las distintas y diversas civilizaciones a lo largo de todo el continente americano, lo cual permitió que su cultivo se convirtiera en un sistema dinámico y continuo, esto dificulta la distinción de unidades discretas para clasificar su diversidad por lo que una aproximación a su estudio es seleccionando de este continuo unidades principales que lo caracterizan, a estas unidades se les han denominado razas. El término “raza” se ha utilizado en el maíz y en las plantas cultivadas para agrupar individuos o poblaciones que comparten características en común, de orden morfológico,

ecológico, genético y de historia de cultivo, que permiten diferenciarlas como grupo (Hernández y Alanís, 1970).

Zea mays ssp. mays, es un grupo de especies monoicas con una inflorescencia femenina (mazorca) y una inflorescencia masculina (espiga) separadas pero en la misma planta, alógamas (polinización abierta, transferencia de polen por viento desde la espiga hasta los estigmas -cabellos- de la mazorca) en donde el 95% de polinización proviene de otra planta y el 5% de la misma planta. Pertenece a la tribu Maydeae de la Familia Graminae (Poaceae) e incluye 3 géneros de origen Americano:

- 1) *Zea*
- 2) *Euchlaena*
- 3) *Tripsacum*

Se han descrito aproximadamente 220 razas de maíz para América Latina (Goodman y McK. Bird, 1977), de las cuales el 29% se han identificado y descrito para México. Las razas de maíz de México se han agrupado, con base en caracteres morfológicos, de adaptación y genéticos (isoenzimas) en siete grupos o complejos raciales (Sánchez *et al.*, 2000).

El primer trabajo sobre clasificación racial del maíz (*Zea mays* L. *spp mays*) fue propuesto por Sturtevant (1899) y en México, por Chávez (1913). Posteriormente, se propusieron otras clasificaciones como las de Kuleshov (1930), Khankhoje (1930), Anderson (1946). En cuanto a la diversificación del maíz en América, Bird (1980) en un trabajo de síntesis logró identificar y definir los “complejos raciales” como el conjunto de razas características asociadas a una distribución geográfica y climática más o menos definida y a una historia evolutiva común (Serratos, 2012). Basándose en los rasgos culturales y ambientales particulares describió 6 regiones principales de distribución de los diferentes complejos raciales (Cuadro 1), ubicando al maíz palomero, objeto de este trabajo, como parte del complejo

racial “Palomeros” el cual se distribuye en la región número 5, del Altiplano Central Mexicano o Mesocentral, que abarca los estados de Tlaxcala, Distrito Federal, Estado de México, Hidalgo, Morelos y Puebla.

Cuadro 1. Distribución de los complejos raciales de maíz en América

	Macro regiones geográficas de América	Complejos Raciales
1	Andes Centrales. Por arriba de los 1800 msnm, desde el norte centro de Perú hasta el noroeste de Argentina.	Harinosos redondos de los Andes Centrales, harinosos pequeños del Altiplano, cristalinos pequeños del Altiplano, cristalinos bolivianos, confite morocho, chutucuno chico.
2	Cuencas Sur y Oeste del Amazonas. Cubre un arco desde Paraguay hasta Venezuela, en la región de los bosques tropicales.	Harinosos imbricados del Amazonas, palomeros elongados paraguayos, morotí cambia.
3	Los Andes Norteños y el Altiplano Centroamericano. Comprende desde el norte de Perú (Huánuco), Colombia y Venezuela hasta Guatemala.	Cristalinos del norte andino, pollo serrano, montaña, rienda-clavo.
4	Caribe y Tierras Bajas. Costas desde Venezuela hasta Belice y las islas caribeñas.	Dentados anchos caribeños, harinosos del bajío tropical, canilla-chandelle, palomeros redondos caribeños.
5	El Altiplano Central Mexicano o Mesa Central. Distrito Federal, Estado de México, Tlaxcala, Hidalgo, Morelos y Puebla.	Dentados cónicos mexicanos, palomeros.
6	El Este de Estados Unidos. Bosques orientales de Estados Unidos, las Dakotas y Carolinas.	Cristalinos norteños.

Fuente: Serratos (2012).

1.1.1 Variabilidad del maíz en México

La variabilidad del maíz de México ha sido objeto de varios estudios que han descrito las razas y las relaciones raciales a lo largo de casi un siglo. El primer estudio que documentó con gran detalle el maíz de México fue el de Chávez en 1913, quien describió 56 variedades con base en caracteres del grano, olote, mazorca y el período de crecimiento vegetativo. Como parte del esfuerzo de recolectar germoplasma de los diferentes cultivos a nivel mundial, Vavilov y colaboradores describieron el maíz de México a finales de la década de los 20's (Bird, 1980). Kuleshov divide el maíz mexicano en tres tipos:

(1) Centro de México: este tipo es endémico de los Valles Altos Centrales de México, con vainas de las hojas muy pubescentes, con presencia de antocianinas, hojas caídas, número reducido de ramas de la espiga, raíces superficiales y al parecer con cierto grado de resistencia al frío y a la sequía.

(2) Dentados: plantas con 18 a 25 hojas, con o sin amacollar, distribuidos en las tierras bajas y elevaciones intermedias.

(3) Tipo de hojas largas y angostas: variedades distribuidas en el sur de México, plantas con 18 a 35 hojas, con o sin amacollar, hojas caídas, largas y angostas con la presencia de antocianinas, con la coloración más intensa en Chiapas, y las hojas que cubren la mazorca son muy fuertes.

En los años 40's Edgar Anderson y sus colaboradores estudiaron el maíz de México (Kelly y Anderson 1943; Anderson y Cutler 1942), como resultado de sus estudios realizaron una clasificación de forma preliminar y describieron los caracteres morfológicos, genéticos y fisiológicos de mayor utilidad en la delimitación y clasificación racial. Algunas de las razas descritas fueron: maíz reventador, piramidal mexicano (palomero toluqueño, cónico, chalqueño, elotes cónicos y cacahuacintle de elevaciones altas, y pepitilla de elevaciones bajas), amarillo de montaña (complejo serrano de Jalisco de Wellhausen *et al.*, 1951; serrano Tapalpa de Benz, 1986), variedades eloterías (elotes occidentales de Wellhausen *et al.*, 1951), maíz dulce, chapalote, mazorca delgada (tabloncillo, tabloncillo perla), tampiqueño y coamilerío (tuxpeño), grano grande guatemalteco (olotón).

Según Bejarano *et al.* (2000) desde el punto de vista de la descendencia lineal se describen seis razas principales de maíz en México:

- a) Palomero Toluqueño. Derivan todas las razas de maíz reventón.
- b) Complejo Chapalote Nal-Tel
- c) Pira. Maíces duros de endospermo amarillo.
- d) Confite Morocho. Maíces de 8 hileras.

- e) Chullpi. Maíces dulces y amiláceos.
- f) Kculli. Maíces con coloración de aleurona y pericarpio.

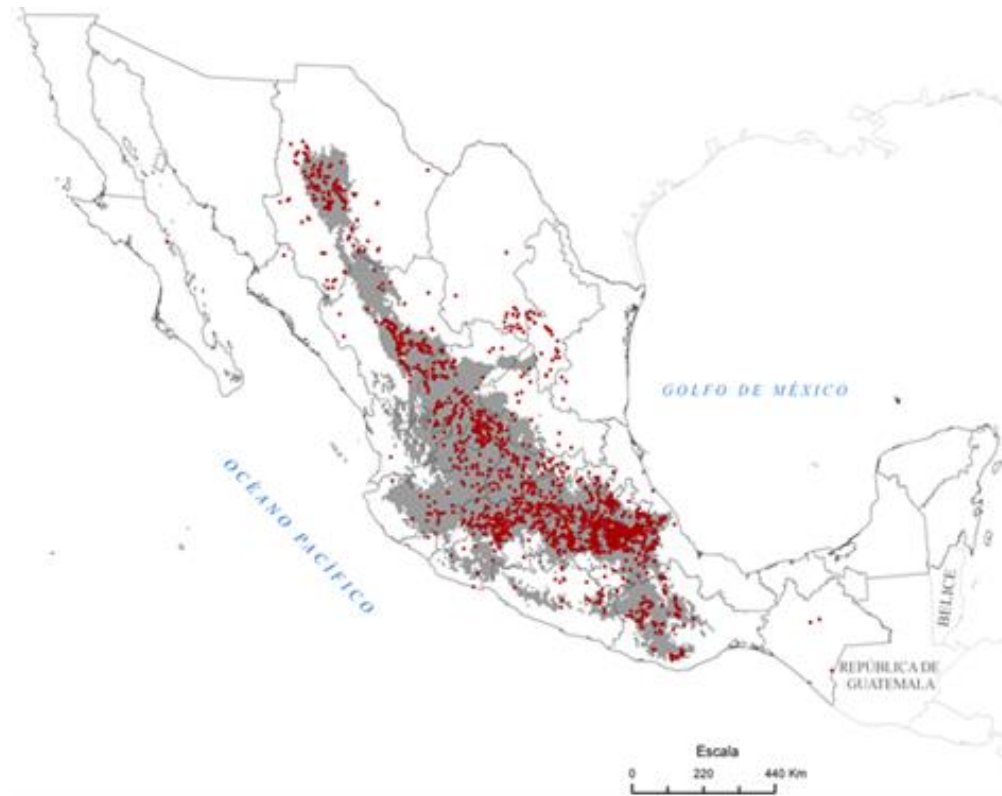
1.2. Descripción del grupo Cónico

El grupo Cónico es uno de los más característicos y endémicos de México. Sus razas son la base de la producción en zonas agrícola del centro del país, y se destinan a diferentes usos alimenticios, como producción de tortilla, tamales, antojitos, pozoles, palomitas, entre otros. A la importancia económica del grano se asocia el aprovechamiento de subproductos de la planta como la hoja para tamal y la planta entera para forraje. Las razas del grupo Cónico presentan similitudes morfológicas con los teocintles de la raza Chalco en el tipo de planta, pubescencia y coloración rojiza en las vainas de las hojas (Kato, 1996; Wilkes, 1977), así como cercanía genética con teocintles de la raza Balsas - *Zea mays ssp. parviglumis* - (van Handerwaagen 2011).

Las razas Arrocillo, Cacahuacintle, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Dulce, Elotes Cónicos, Mixteco, Mushito, Mushito de Michoacán, Negrito, Palomero de Jalisco, Palomero Toluqueño y Uruapeño se encuentran dentro del grupo Cónico, el cual incluye razas de maíz tienen en común mazorcas de forma cónica o piramidal, granos de 4 a 8 mm de ancho con textura variable, entre 14 y 20 hileras de grano, desde harinosos hasta palomeros, número reducido de ramas de la espiga, sistema de raíces débiles, hojas caídas y vainas de las hojas fuertemente pubescentes con la presencia de antocianina. La raza Palomero de Chihuahua se asocia a este grupo con más consistencia que al conjunto de razas del Grupo Sierra de Chihuahua (Sánchez *et al.*, 2011).

Se distribuyen en regiones con elevaciones de más de 2,000 m.s.n.m. y en su mayoría son endémicas a los valles altos y sierras del centro del país: el Valle de México, el Valle de Toluca, la Sierra Norte de Puebla, la Meseta Purhépecha en Michoacán y la Mixteca Alta en Oaxaca. La raza Cónico Norteño, derivada de Cónico del centro, es básicamente la que da a este grupo una distribución amplia

por su cultivo en la zona semiárida templada del centro norte del país; y hacia el sur prevalecen las razas Chalqueño, Cónico, Mixteco y Mushito (Figura 1).



Fuente: CONABIO (2011).

Figura 1. Distribución de razas de maíz del grupo Cónico.

1.3 *Zea mays everta*

La derivación de 'maíz palomero toluqueño' es el nombre empleado comúnmente para los maíces reventadores que producen palomitas o rosetas cuando se exponen a elevadas temperaturas; dicho nombre fue asignado por Wellhausen *et al.* (1951) al sumar el nombre común de toluqueño al maíz palomero.

Algunos investigadores creen que las razas indígenas palomero toluqueño, arrocillo amarillo, chapalote y nan-tel se originaron del maíz primitivo tunicado, que se caracteriza porque cada grano se encuentra envuelto individualmente por una bráctea, ya que varios restos se ha encontrado en Nuevo México y Chihuahua. El maíz palomero toluqueño está clasificado dentro del primer grupo de razas de

maíz, denominado 'indígenas antiguas'. Sin embargo, al carecer de registro histórico formal, el origen del maíz y de la variedad palomero ha sido por largo tiempo un problema etnobotánico controvertido.

De acuerdo con Serratos (2012), en México son 56 las variedades existentes de maíz que han sido cotejadas y seis más que aún son imprecisas. En cuanto al maíz palomero en México destacan dos variedades principales:

- El linaje del Nal Tel Chapalote (maíz palomero de grano redondo), originario de la península de Yucatán.
- El Palomero Toluqueño (maíz palomero de grano puntiagudo, tipo arrocillo), originario del valle central de México.

De todas las razas del grupo cónico sólo la variedad toluqueño y la variedad arrocillo son empleadas para hacer palomitas, aunque la variedad toluqueño es la que se cultiva con este propósito principalmente (CONABIO, 2010).

El palomero toluqueño es un maíz ancestral perteneciente al grupo del Altiplano Norte-Centro capaz de crecer en regiones ubicadas a una altura superior a 2,000 metros sobre el nivel del mar. Pertenece al grupo de razas de maíces cónicos, que son endémicas de México. Está considerado como una de las razas más antiguas de México, cuyo probable centro de distribución haya sido el valle de Toluca, Estado de México, de ahí el nombre. Las características que lo distinguen, son mazorcas cónicas de tamaño pequeño, de hileras numerosas, con granos puntiagudos en forma de arroz y reventadores. Aunque el uso y consumo del maíz palomero toluqueño sea destinado para la elaboración de palomitas, las comunidades de nahuas y mazahuas de esta región, también lo aprovechan en la preparación de tamales (Romero *et al.*, 2006).

Taxonómicamente el maíz pertenece a la familia Graminaea, tribu Maydeaes y género y especie *Zea mays* L. Las maydeaes comprenden tres géneros: *Zea* (maíz), *Euchlaena* (teocinte) y *Tripsacum* (tripsacum). Existen por lo menos tres

hipótesis sobre el origen del maíz cultivado, pero solo una ha recibido consideración especial hasta el presente, la misma postula que el maíz es un descendiente del teocinte (*Euchlaena mexicana* = *Zea mexicana* = *Zea mays* ssp *mexicana*) que en sucesivos procesos de evolución ha llegado al estado actual de diferenciación. En cuanto al teocinte, es una gramínea anual que desarrolla en forma de matas y que se reproduce libremente en México. El género *Tripsacum* y su relación con el maíz no ha podido ser demostrado (CONABIO, 2010).

Clasificación taxonómica

Reino Vegetal
División Tracheophyta (plantas con tejidos vasculares)
Subdivisión Pteropsidae (con hojas grandes)
Clase Angiospermae (plantas con flor; semillas dentro de frutos)
Subclase Monocotiledoneae (con un solo cotiledón)
Grupo Glumiflora
Orden Graminales (generalmente hierbas)
Familia Gramineae (hojas con dos filas alrededor o tallos aplanados)
Tribu Maydeae
Género *Zea* (maíz)
Especie *mays* (maíz cultivado o domesticado)

Clasificación estructural

A excepción del tunicado, el maíz puede dividirse en varios tipos, razas o grupos (Figura 2) en función de calidad, cantidad y patrón de composición del endospermo (Reyes, 1990). Estos son:

Maíz dentado (*Zea mays indentata*): Tiene una cantidad variable de endospermo corneo (duro) y harinoso (suave). La parte cornea está a los lados y detrás del grano, mientras que la porción harinosa se localiza en la zona central y en la corona del grano. Se caracteriza por una depresión o “diente” en la corona del grano, que se origina por la contracción del endospermo harinoso a medida que el

grano va secándose. Se usa principalmente como alimento animal, materia prima industrial y para la alimentación humana. Se estima que el 95% de la producción de Estados Unidos es con variedades de este tipo.

Maíz cristalino (*Zea mays indurata*): Contiene una gruesa capa de endospermo cristalino, que cubre un pequeño centro harinoso. Generalmente el grano es liso y redondo. En Estados Unidos se produce poco. Se siembra ampliamente en Argentina, en otras áreas de Latinoamérica y al sur de Europa, donde se usa como alimento animal y humano. Según el Departamento de Agricultura de Estados Unidos, este tipo de maíz es de cualquier clase (blanco, amarillo o mezclado), y consiste en un 95 % o más de maíz cristalino.

Maíz harinoso (*Zea mays amilaceo*): Se caracteriza por un endospermo harinoso, sin endospermo cristalino. Es de producción limitada en Estados Unidos. Es muy común en la región Andina del sur de América. En México este tipo de maíz se usa para hacer pozole.

Maíz dulce (*Zea mays saccharata*): En este tipo de maíz, la conversión del azúcar en almidón es retardada durante el desarrollo del endospermo. En Estados Unidos se consume en estado lechoso-masoso, como vegetal enlatado o consumo fresco.

Maíz palomero (*Zea mays everta*): Es una de las razas más primitivas y es una forma extrema de maíz cristalino. Se caracteriza por un endospermo cristalino muy duro, que solamente tiene una pequeña porción de endospermo harinoso. Sus granos son redondos (como perlas), o puntiagudos (como el arroz). Aproximadamente el 0.1% de la superficie maicera total de Estados Unidos, se siembra con este cultivar, que se emplea principalmente para consumo humano en la forma de rosetas (palomitas), dada su característica de expansión al someterse al calor.

Maíz tunicado (*Zea mays tunicata*): Se caracteriza porque cada grano está encerrado en una vaina o túnica. La mazorca está cubierta con “espatas” como los

otros tipos de maíz. Se usa como ornamento o como fuente de germoplasma en los programas de fitomejoramiento.

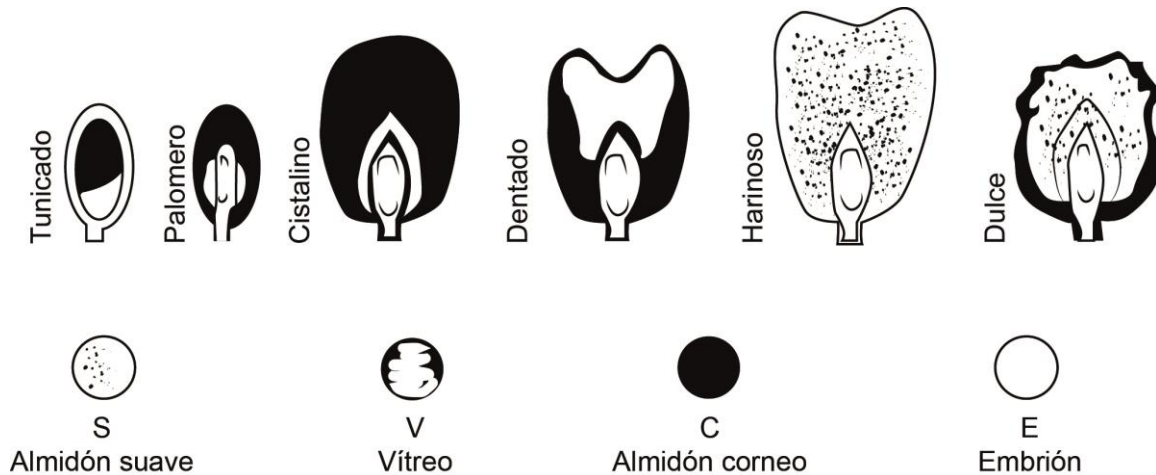


Figura 2. Grupos de maíz basados en la textura del grano (Elaboración Propia 2015. Fuente: Reyes, 1990)

1.3.1 Morfología y estructura del grano

El maíz pisingallo (reventador, palomero o pororó) tiene un tipo de grano con endospermo corneo muy duro, conteniendo solo una pequeña fricción de almidón encerrado en un pericarpio grueso, denso y resistente. Se distinguen dos tipos, el blanco de grano más pequeño terminado en una punta (denominado arrocillo por su parecido al arroz) y el amarillo de corona redondeada, grano más grande (denominado perla).

El fruto de la planta del maíz se llama comercialmente grano, botánicamente es una cariósida y agrícolamente se le conoce como semilla. Está formado por las siguientes partes (CONABIO, 2012):

Pericarpio: Cubierta del fruto de origen materno, se conoce como testa, hollejo o cáscara.

Aleurona: Capa de células del endospermo, de naturaleza proteica.

Endospermo: Tejido de reserva de la semilla, que alimenta al embrión durante la germinación. Es la parte de mayor volumen. Hay dos regiones bien diferenciadas en el endospermo, el suave o harinoso y el duro o vítreo. La proporción depende de la variedad.

Escutelo o cotiledón: Parte del embrión.

Embrión o germen: Planta en miniatura con la estructura para originar una nueva planta, al germinar la semilla.

Capa terminal: Parte que se une al olote, con una estructura esponjosa, adaptada para la rápida absorción de humedad. Entre esta capa y la base del germen se encuentra un tejido negro conocido como capa hilar, la cual funciona como un mecanismo sellante durante la maduración del grano. La formación de la capa negra indica grano maduro.

La capacidad de reventar parece estar condicionada por la proporción relativa de endospermo córneo, en el que los gránulos de almidón están incrustados en un material coloidal tenaz y elástico que resiste la presión de vapor generada dentro del grano al calentarse, hasta que alcanza una fuerza explosiva, que lo hace aumentar su volumen original unas 30 veces.

1.3.2 Importancia económica y producción

El maíz palomero está considerado como una de las razas primitivas sobrevivientes del maíz. Éste ha estado presente en distintas ubicaciones geográficas de América desde antes de la llegada de Colón en 1492. Aunque el Valle de Toluca (2,600 m) se considera su aparente centro de distribución, se han colectado formas similares en otras regiones aisladas de la Mesa Central (Michoacán, Puebla), en altitudes que varían de 2,000 a 2,800m (Hernández, 2010). En 1995, el maíz palomero en sus distintas variedades estaba catalogado como una de las especies registradas en los estados de Michoacán, Estado de

México, Campeche, Oaxaca, Puebla, Tabasco, Tlaxcala, Veracruz, Yucatán y Chiapas, principalmente.

Desde las exploraciones en los años 40's hasta la actualidad, las poblaciones de esta raza son escasas y están poco representadas en los bancos de germoplasma (Wellhausen *et al.*, 1951; Hernández-Casillas, 1999). Las poblaciones actuales ya no presentan en su totalidad las características típicas inicialmente descritas de esta raza.

El principal mercado consumidor es Estados Unidos, se calcula un consumo anual per cápita de 57 kilos de maíz reventado, de los cuales aproximadamente el 70% es consumido en casa (hecho en casa y pre-echo en casa) y cerca del 30% fuera de casa (teatros, estadios, escuelas, etc.). La mayoría de las palomitas de maíz consumidas alrededor del mundo se cultivan en los Estados Unidos. Los principales estados productores de palomitas de maíz son Illinois, Indiana, Iowa, Kansas, Kentucky, Michigan, Missouri, Nebraska y Ohio (US Popcorn Board, 2015).

Aunque es considerado un cultivo menor comparado con el maíz tradicional, en México el consumo anual de maíz palomero ha fluctuado de 30 a 40 mil toneladas, (SIAP, 2015), siendo nuestro país productor de apenas el 3% del consumo nacional (2358.14 toneladas en 2014). La mayor parte de la superficie sembrada en México de maíz palomero (596 ha) se encuentran en el estado de Tamaulipas y pertenecen a la empresa Veloz Ramos S.A. de C.V.

En los últimos años la producción ha ido disminuyendo de forma considerable como se observa en la Figura 3, en la actualidad aproximadamente el 97% (entre 27-37 mil toneladas por año) se importa de Estados Unidos principalmente (Ziegler, 2001; US Popcorn Board, 2015). Estados Unidos produce alrededor del 40% de maíz en el mundo, siendo su cultivo más importante, con más de 28 millones de hectáreas, lo cual generó una producción con valor de \$31.39 mil

millones de dólares en el año 2011 (FAO, 2015). Sus principales mercados de exportación son Japón, Corea del Sur y México.

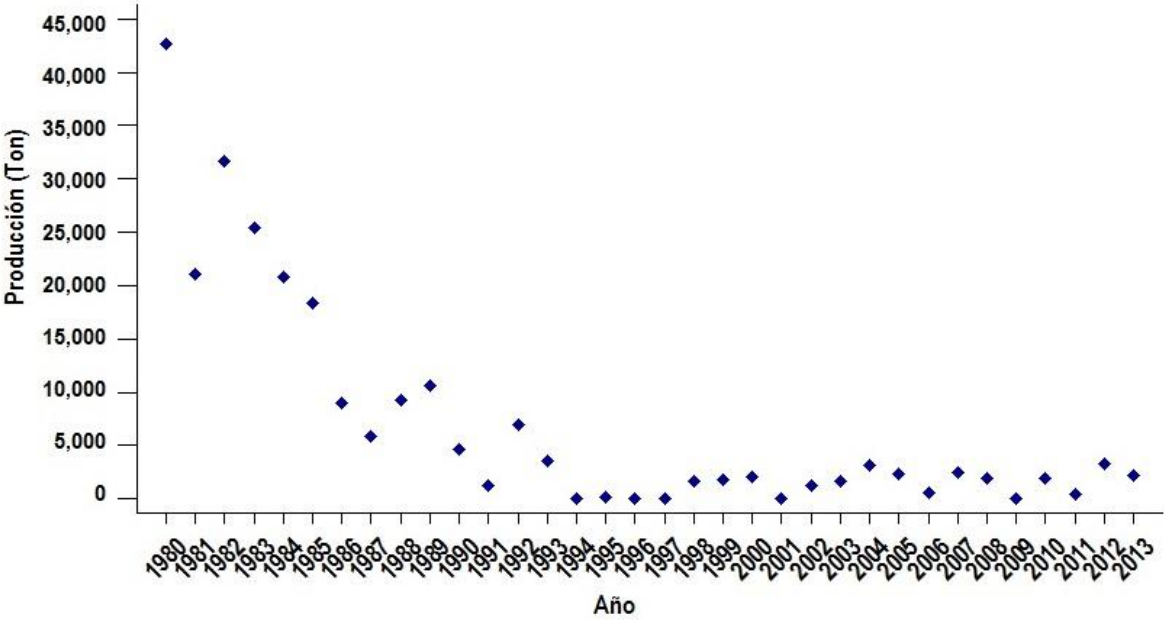


Figura 3. Tendencia de producción del maíz palomero en México (Elaboración Propia 2015. Fuente: www.siap.gob.mx)

Ante la necesidad de contar con tecnología propia, el INIFAP aprobó en 2008, un proyecto nacional de mejoramiento de maíz palomero, que ubicó su sede en el estado de Tamaulipas, entidad donde la siembra de este grano se ha venido realizando en el municipio de Abasolo, bajo el esquema de agricultura por contrato, empleando híbridos de importación y pagando al agricultor un precio por tonelada de grano, 1.3 veces el valor de la tonelada de maíz amarillo (Valadez, 2011).

A pesar de la falta de variedades y de tecnología para su producción y manejo poscosecha que impiden estructurar un programa nacional de producción de maíz palomero para abastecer una parte más significativa de nuestro consumo interno, a partir de 2010, el estado de Guanajuato inició mediante la Secretaría de Desarrollo Económico Sustentable del Estado, un programa de Identificación de oportunidades estratégicas para el desarrollo (IOED) y en su Fase II incluyó un

análisis para el maíz palomero con lo que inició un programa de importación procesamiento y exportación de éste grano, en la actualidad cerca de 4 mil hectáreas de maíz palomero son importadas anualmente de Estados Unidos para su procesamiento y empaque en la planta de ConAgra Foods de Irapuato, en donde una vez procesadas se exportan nuevamente a Estados Unidos (Gobierno del Estado de Guanajuato, 2010).

Aun cuando las condiciones para el cultivo del maíz palomero son las mismas que para otras variedades de maíz, se requieren prácticas especiales para su cosecha, secado y almacenamiento a fin de mantener la calidad requerida para el reventado. Algunas de las ventajas que posee este cultivo son el menor requerimiento de agua e insumos en general, por ser una planta más pequeña. Sin embargo, se requiere de adecuaciones tecnológicas para su producción comercial, así como la determinación de su factibilidad económica (Ziegler, 2001).

Dada su similitud con el maíz amarillo en cuanto a los requerimientos de tecnología para su cultivo y manejo, en México se dispone de las condiciones agroclimáticas adecuadas para producir este tipo de maíz, como son la humedad, temperatura, luminosidad y condiciones edáficas. Sin embargo, es necesario desarrollar los materiales genéticos que mejor se adapten a cada región.

1.4 Generalidades de Hongos

Después de los insectos los hongos son los organismos más diversos del planeta, se calcula que podrían existir 1.5 millones de especies (Hawksworth, 2001). La actividad de los hongos microscópicos y macroscópicos tiene importantes repercusiones en el equilibrio dinámico ecológico de los ecosistemas, la economía, salud y quehaceres cotidianos del hombre. A pesar de esto, a nivel mundial, el conocimiento de la diversidad de las especies del Reino Fungi es precario, no se ha descrito ni el 10 % de las especies que se calcula existen en el planeta (Hawksworth, 1991). Para México, Guzmán (1998) calculó que al menos podrían existir 200 000 especies de hongos, de las cuales apenas se han descrito

entre 10 000 y 13 000, entre ellas las especies microscópicas constituyen menos de la mitad a pesar de ser las más numerosas dentro del Reino Fungi.

Algunos esquemas de clasificación han separado a los organismos tradicionalmente conocidos como hongos en diversos reinos. En el esquema de clasificación de Whittaker y Margulis se incluyeron en el reino Protista a los fungoides ameboides y zoospóricos y en el reino Fungi a los fungales o eufungi. El primer gran grupo de organización que se distinguía en los organismos tradicionalmente conocidos como hongos son los que se alimentan por fagocitosis (fagotrofia), debido a que tienen un talo vegetativo desnudo, en forma de una gran ameba plasmodial. Estos organismos actualmente son incluidos dentro del grupo de vida fungoide, hoy en día este grupo no se considera dentro del Reino Fungi, algunos autores los incluyen dentro de los protistas. Los organismos que se conocían como hongos y que se alimentan por digestión externa, lisotrofia, con un talo vegetativo típicamente filamentosos el cual está protegido por una pared rígida que contiene principalmente celulosa y/o quitina actualmente se consideran relacionados con las algas (Pheophyta) dentro del Reino Straminipila (=Chromistas) o también llamados pseudofungi en donde se incluyen los Oomycota, Hyphochitriomycota y Laberynthulomycota (Hibbett y Binder, 2001; Lutzoni *et al.*, 2004). El grueso de los hongos lisotróficos (más del 98%) constituye según muchos autores un grupo monofilético incluido dentro de los Eumycota u hongos verdaderos.

Le ha tomado décadas a los micólogos distinguir entre los hongos y los protistas organismos de vida fungoide con características ecológicas, morfológicas y alimentación similares a los hongos, y las afinidades entre taxones que antes se consideraban hongos y otros grupos eucariotas han sido demostradas mediante filogenias moleculares (Barr, 1992; Cavalier-Smith, 2001). Los análisis filogenéticos tanto de ADN ribosomal como de los genes codificadores de proteínas sugieren que los hongos están en realidad más estrechamente

relacionados con los animales (Wainright *et al.*, 1993; Baldauf y Palmer, 1993; Berbee y Taylor, 2001; Lang *et al.*, 2002).

En el esquema de ocho reinos propuesto por Cavalier y Smith se incluyeron dentro del reino Protozoa a los fungoides ameboides, en el reino Chromista (también conocidos como Straminipila) a los pseudofungi, y en el reino Fungi cuatro Phyla: Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota y los estados anamorfos (Winka *et al.*, 2007). Actualmente los hongos incluidos tradicionalmente dentro de los phyla Chytridiomycota y Zygomycota han sufrido cambios importantes. Los Chytridiomycota se siguen conservado como phylum pero en un sentido más estricto y algunos ordenes que se reconocían en este phylum, como los Blastocladales y Neocallimastigales han sido reconocidos como phylum. El phylum Zygomycota no ha sido aceptado en las clasificaciones recientes por sus relaciones filogenéticas, reconociéndose el phylum Glomeromycota y cuatro subphyla *inc. sedis.*: Mucormycotina, Kickcellomycotina, Zoopagomycotina y Entomophthoromycotina. Por lo que los hongos verdaderos incluidos dentro del reino Fungi comprenden 7 phyla: Chytridiomycota, Blastocladiomycota, Neocallimastigomycota, Microsporidia, Glomeromycota, Ascomycota y Basidiomycota estos dos últimos formando un subreino Dykaria (Moore *et al.*, 2011).

El origen de los hongos se supone fue en el Precámbrico (2000 millones de años) aunque la filogenia de los hongos es todavía un trabajo en proceso, fósiles y otras líneas de evidencia han sido usados con fines de calibración del reloj molecular para proporcionar una estimación de edad absoluta asignada a los principales grupos, utilizando genes de la subunidad ribosomal ARN nuclear. Barbee y Taylor (2001) sugirieron que las primeras divergencias en los hongos se produjeron aproximadamente hace de 800 millones de años, en contraste con el análisis de genes múltiples codificadores de proteínas realizado por Heckman *et al.* (2001) en donde sugieren que el origen de los hongos pudo presentarse hace 1.5 billones de años y que la divergencia entre Ascomycota y Basidiomycota ocurrió

aproximadamente hace 1.2 billones de años (Lutzoni *et al.*, 2004; Sanderson *et al.*, 2004).

Los hongos constituyen un grupo de organismos eucariontes, sin pigmentos fotosintéticos, (uninucleados, multinucleados, haploides, diploides o dicarióticos), con ciclo de vida asexual y/o sexual (homo o heterotálicos), con esporomas (micro o macroscópicos), de vida heterotrófica, su nutrición es por absorción, en su gran mayoría son pluricelulares, su pared celular esta típicamente bien definida compuesta por β -glucanos y quitina, no almacenan almidón como sustancia de reserva, presentan un talo típico micelial que puede ser cenocítico o septado. Son ubicuos de hábitat terrestre o acuático, menos comunes en ambientes marinos. Presentan un papel ecológico importante como saprobios, simbioses mutualistas, parásitos o hiperparásitos (Ulloa *et al.*, 2006; Webster y Weber, 2009).

Los hongos requieren para su crecimiento diferentes sustancias nutritivas, principalmente carbohidratos como fuente de carbono, aunque los factores determinantes son la temperatura y la humedad. Para que un hongo crezca el límite de humedad es generalmente del 65 al 75% (hongos xerófilos). Si el límite de humedad es inferior el hongo sobrevive pero no crece (Khachatourians, 2007).

La temperatura muchas veces va ligada a la humedad. La mayoría de los hongos son mesófilos (necesitan de una temperatura óptima, entre 20 y 25°C). Hay hongos termófilos, adaptados a vivir y crecer a temperaturas más altas como algunos hongos patógenos de humanos y mamíferos. También hay hongos que viven en condiciones de frío como los hongos psicrófilos, cuya temperatura óptima es más baja de lo normal. Otro factor que necesitan los hongos para crecer es la luz, aunque no es absolutamente necesaria para todos los hongos, para lo que si es necesaria la luz es para la esporulación. El oxígeno también es muy importante para el crecimiento, todos los hongos son aerobios estrictos, algunos levaduriformes y filamentosos son aerobios facultativos, y otros, toleran concentraciones bajas de oxígeno y son denominados microaerófilos, pocas

especies son aerobios estrictos. También necesitan ciertos niveles de dióxido de carbono. Por lo general viven sobre cualquier sustrato con algo de materia orgánica y húmedo, pero lo óptimo es un rango de pH entre 3,6 y 6,5 (Carlie *et al.*, 2001).

1.4.1 Hongos que invaden granos y semillas.

Es un problema común la invasión por diversos microorganismos en los granos y semillas durante su desarrollo en el campo así como también durante el proceso de almacenaje, siendo los hongos los más abundantes y la causa principal de diversas enfermedades en las plantas, severas pérdidas económicas, así como un latente riesgo en la salud humana ya que algunas especies son productoras de micotoxinas (Soriano del Castillo *et al.*, 2007).

La sanidad es uno de los principales factores responsables de la expresión de la calidad. Es así entonces, que debe determinarse la calidad sanitaria de los granos y semillas, la cual se mide en términos de la presencia o ausencia de organismos patógenos (Bringel *et al.*, 2001).

Tradicionalmente los hongos presentes en los granos y semillas se han clasificado ecológicamente en dos grupos, “hongos de campo” como algunas especies de los géneros *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, entre otros, y “hongos de almacén” siendo *Aspergillus* y *Penicillium* los géneros más comunes. Los hongos de campo requieren humedades relativas de 90 a 100% mientras que los de almacén pueden crecer a humedades relativas de 65 a 90%. Por otra parte existe otro grupo de hongos denominados “hongos de deterioro avanzado” los cuales colonizan granos y otros productos alimenticios que han sufrido un deterioro biológico previo y las humedades relativas son superiores al 90%, invadiendo los granos durante pésimas condiciones de almacenamiento o en condiciones que se ocasionan desde el campo (Moreno, 1998).

1.4.2.1 Hongos de campo

Estos hongos invaden los granos o semillas antes de la cosecha, mientras las plantas están creciendo o después de que el grano es segado y amontonado pero antes de que sea trillado. Estos hongos varían de acuerdo con la cosecha, la región o localización geográfica y el clima, la mayoría de los hongos de campo que invaden los granos son especies de los géneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Helminthosporium* y *Fusarium* (Moreno, 1998).

Los daños que causan los hongos de campo a los granos dependen en gran medida de la severidad del ataque y del hongo que se trate. Si el ataque es muy severo puede destruir el grano como frecuentemente sucede con las pudriciones de las mazorcas de maíz por especies de *Fusarium*; si el ataque no es severo el hongo permanece en la semilla sin afectarla aparentemente, y ésta es la forma en la que muchos hongos son transmitidos por la semilla de un ciclo agrícola a otro. Algunos hongos de campo ponen en peligro la salud del consumidor (animales domésticos y el hombre) ya que ciertas especies producen metabolitos secundarios tóxicos llamados micotoxinas (SCOOP, 2003).

1.4.2.2 Hongos de almacén

Los hongos de almacén comprenden cerca de una docena de especies de *Aspergillus*, algunas especies de *Penicillium*, una sola especie de *Sporendonema* y posiblemente algunas especies de levaduras causando principalmente daño al embrión, hedor, calentamiento, apelmazamiento e ignición de los silos como resultado de un mal almacenamiento (Christensen y Kaufmann, 1969).

Aspergillus y *Penicillium* son dos de los géneros de hongos toxigénicos más importantes, entre ellos se encuentran *Aspergillus flavus* Link, y *Aspergillus parasiticus* Speare, productoras de aflatoxinas. Todos estos hongos pueden crecer en granos y semillas cuyos contenidos de humedad están en equilibrio con humedades relativas del 70% al 90%, éstos generalmente no invaden severamente antes de la cosecha (Moreno y Ramírez, 1991).

1.4.2.3 Hongos de deterioro avanzado

Este grupo de hongos puede invadir a los granos y a otros productos que han estado bajo pésimas condiciones de almacenamiento, condiciones que en ocasiones se inician en el campo. Los hongos de deterioro avanzado, prácticamente destruyen a los granos y productos que invaden debido a su alta capacidad de degradar la materia orgánica y además algunos de ellos tienen la capacidad de producir micotoxinas (Moreno, 1998).

Aspergillus niger V. Tiegh, es considerado como un hongo que coloniza productos que se encuentran en avanzado estado de deterioro. Requiere que los productos tengan contenidos de humedad en equilibrio con humedades relativas de 90-95%. Cuando se aísla de granos que han estado almacenados con contenidos de humedad de 13 a 18% lo más probable es que sean contaminaciones del medio ambiente o que la desinfección superficial de los granos fue infectiva. *Rhizopus* otro hongo de deterioro avanzado que se encuentra en el suelo en toda clase de materia orgánica vegetal en descomposición, para su desarrollo requiere ambientes con humedades relativas de 95-100%. Se le ha aislado de granos de maíz en avanzado estado de deterioro, mientras que en medios de cultivo crece rápidamente enmascarando el desarrollo de otros hongos de crecimiento más lento (Moreno, 1998).

1.4.3 Hongos del maíz palomero

En México se tiene poca información sobre los hongos asociados a maíz palomero, la mayoría de ellos están enfocados a la determinación de micotoxinas en el grano, de los primeros estudios se encuentra el realizado por Pacin *et al.* (2002) donde se evaluó la presencia de hongos y micotoxinas en maíz palomero de recién cosecha en Buenos Aires, Argentina donde se reportó la presencia de cuatro especies de hongos como *Alternaria alternata*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum* y *Penicillium funiculosum*. D'Ovidio *et al.* (2005) encontraron la presencia de *Fusarium moniliforme* (= *Fusarium verticillioides*) y

especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* en granos de maíz palomero tanto en muestras de campo como en muestras de maíz industrializado. Por otro lado Dowd y Johnson (2010) evaluaron la presencia de micotoxinas en campos productores de maíz palomero en Illinois E.U.A. durante cuatro años, siendo frecuente la presencia de fumonisinas y deoxynivalenol (DON), micotoxinas producidas por algunas especies de género *Fusarium*, hongos reportados como presentes en estudios anteriores. Alborch *et al.* (2012) evaluaron en España muestras de maíz palomero recién cosechado y muestras de maíz palomero comercializado en anaquel, encontrando con mayor frecuencia especies de los géneros *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium* y *Penicillium*.

1.4.4 Métodos de control de hongos

Se han utilizado en la agricultura varias estrategias para el control de los hongos, como la aplicación de productos agroquímicos (Cornelissen y Melchers, 1993), inicialmente estos productos proporcionaron resultados beneficiosos (FIS, 1999), pero su uso excesivo ha causado daños irreversibles en el suelo, el medio ambiente y en la salud humana y animal (Vasilevski, 2003).

Existen diversos métodos para el combate de éstos hongos los cuales dependen del tipo de hongo que se requiera controlar, así bien las buenas prácticas agrícolas durante el cultivo, cosechas a tiempo y un manejo adecuado de poscosecha puede reducir el impacto de los hongos de campo, mientras que el secado de los granos a niveles de humedad relativa menores del 75% y el almacenamiento a bajas temperaturas puede retardar el crecimiento de los hongos de almacén y de deterioro avanzado. Sin embargo, el factor más importante para el control de los hongos, es el contenido de humedad, el cual está dado en función directa del equilibrio entre la humedad del grano y del ambiente (Moreno, 1998).

Otras técnicas (control químico) utilizadas para el control de hongos incluyen, por ejemplo, la fumigación con dióxido de carbono (CO₂) (Nilrattanakhun, 2003), la desinfección con óxido de propileno (Almond Board of California, 2007), el

tratamiento con sales de ácido propiónico (Moreno *et al.*, 2000), y la aplicación de ozono (Khadre *et al.*, 2001).

1.4.5 Micotoxinas

Las micotoxinas son compuestos no esenciales producto del metabolito secundario de algunas especies de hongos, tienen lugar cuando la fase de crecimiento llega a su etapa final durante la fase estacionaria asociado con la diferenciación y la esporulación (Figura 4). Son moléculas pequeñas ($P_m < 700$) en su mayoría originadas en la ruta poliacetónica, derivados de la cadena general del tipo: $R-CO-CH_2-CO-CH_2-CO-CH_2-CO-CH_2-ScoA$. En la actualidad afectan casi un cuarto de la producción mundial de alimentos y cultivos forrajeros. El riesgo de contaminación por micotoxinas es un importante problema de seguridad alimentaria para los granos y otros cultivos (Kuipper-Goodman, 1999).

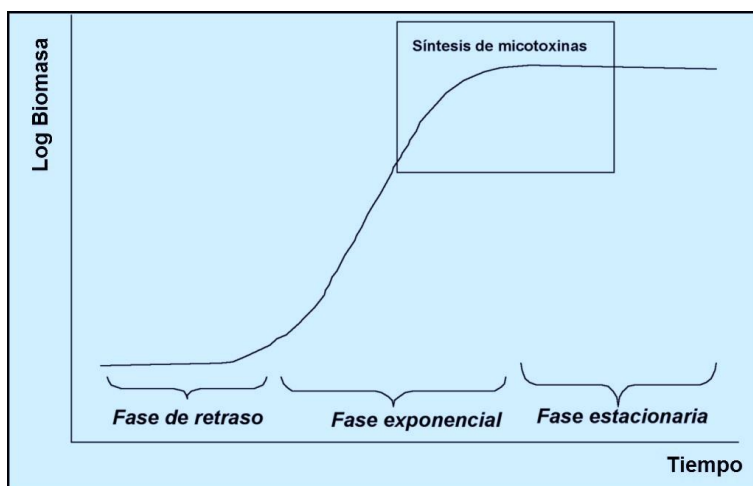


Figura 4. Fases de crecimiento fúngico y síntesis de micotoxinas (Fuente: Soriano del Castillo *et al.*, 2007)

Algunos de los hongos que producen éstos metabolitos son especies del género *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Se ha reportado la presencia de estos compuestos en los alimentos para consumo humano e ingredientes de alimentos para animales tales como el maíz, el sorgo, el trigo, la cebada, cacahuates, y otras legumbres y semillas oleaginosas. Comúnmente, cinco grandes grupos de micotoxinas - aflatoxinas, vomitoxina, ocratoxina A, fumonisin y la zearalenona -

se encuentran en cereales y piensos. Entre las micotoxinas, probablemente el riesgo más ampliamente reconocido proviene de las aflatoxinas, éstas son extremadamente potentes carcinógenos y las sustancias mutágenas que fueron primero el centro de la atención pública. Las aflatoxinas fueron identificadas formalmente a principios de 1960 después de la muerte de más de 100,000 pavos jóvenes en una granja avícola en Inglaterra asociada al consumo de harina de cacahuete brasileño contaminado con altas concentraciones de aflatoxinas. Esta contaminación por aflatoxinas es más común en los países de América, Asia y Sudáfrica por los climas cálidos y húmedos, pero también se presenta en zonas templadas de América del Norte y Europa. Los hongos que producen micotoxinas pueden producirse ya sea en el campo (en el suelo, vegetación en descomposición, y granos sometidos a deterioro microbiológico) o durante el transporte o el almacenamiento poscosecha (Soriano del Castillo *et al.*, 2007).

La detección y control de los hongos es una preocupación continua, ya que su establecimiento y permanencia en la materia prima puede ocurrir en cualquier punto de la producción, almacenamiento, transporte y la cadena de procesamiento. Otro motivo de preocupación es que la ausencia de moho visible no garantiza que el alimento esté libre de micotoxinas, ya que han sido aisladas en alimentos procesados como el pan, fideos, macarrones, carne cocinada, queso, harinas y diversos productos (Guerzoni, 1999).

Para el consumidor, las micotoxinas representan un problema de seguridad alimentaria por la continua exposición potencial a través del consumo de alimentos elaborados a partir de cultivos contaminados, lo que puede causar la rápida aparición de micotoxicosis aguda, una enfermedad grave caracterizada por vómitos, dolor abdominal, edema pulmonar, convulsiones, coma, y en casos raros, la muerte, estos casos aunque son poco frecuentes se ha informado en muchas partes del mundo, por lo general en los países en desarrollo, tales son los casos de la muerte de 3 personas en Taiwán en 1967 o la muerte de más de 100 personas en el noroeste de la India en 1974. Ambos brotes fueron atribuidos a la

contaminación por aflatoxinas, de arroz en Taiwán y de maíz en la India. La vomitoxina fue responsable de otro evento de gran magnitud en la India en 1988 (Miller, 1995).

Aunque más difícil de asociar directamente el consumo de micotoxinas con enfermedades a largo plazo, son conocidos los efectos crónicos de estas sustancias, un resumen de los principales riesgos causados por aflatoxinas y fumonisinas a la salud humana se muestran en el Cuadro 2. La aflatoxina B1 fue colocada en la lista de conocidos carcinógenos humanos por la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer en 1988 (IARC, 2002) y de otras micotoxinas que se sabe que son cancerígenos o tienen otras consecuencias adversas para la salud (CAST, 2003).

Cuadro 2. Riesgos a la salud humana producidos por algunas micotoxinas (Elaboración propia 2015. Fuente: Soriano del Castillo *et al.*, 2007).

Micotoxina	Tipos	Efectos Fisiopatológicos
Aflatoxinas	B1, B2, G1 y G2	Daño hepático agudo, cirrosis, inducción de tumores, disminución de la eficacia del sistema inmunitario, teratogénesis y acumulación en tejidos. La Aflatoxina B1 actúa sobre el metabolismo de glúcidos y lípidos, es considerada la de mayor riesgo.
Fumonisin	B1 y B2	Neurotóxicos (leucoencefalomalacia), nefrotóxicos, edema pulmonar y cerebral, hepatotóxicos y lesiones cardíacas. Los órganos afectados son: cerebro, pulmón, hígado, riñón y corazón. Cáncer de esófago e hígado.

Para proteger a los consumidores de estos riesgos para la salud, muchos países han adoptado normas para regular la exposición a las micotoxinas. Al igual que con muchas normas de seguridad alimentaria, regímenes comerciales y nacionales que rigen las micotoxinas a menudo toman la forma de los productos, en lugar de procesos, estándares. El Acuerdo de La Organización Mundial del Comercio y Sanitaria establece que estas normas deben basarse en las evaluaciones de riesgos de sondeo. Sin embargo, estas normas suelen ser muy

tolerables con los niveles máximos permitidos esto asociado en gran medida con el nivel de desarrollo económico y la susceptibilidad de los cultivos de un país a la contaminación (Cuadro 3).

Cuadro 3. Legislación mundial para el contenido de micotoxinas en granos, cereales y alimentos (Elaboración Propia 2015. Fuente: European Union Comments for the Codex Committee on Contaminants in Foods, 2010).

Micotoxina	Límites permitidos	Regulación
Aflatoxinas Totales	0-35 µg/Kg	Mundial
Fumonisinás Totales	Nivel máximo de de 1000 µg/Kg en maíz y alimentos de maíz.	Comisión Europea (CE)

En los Estados Unidos, las aflatoxinas no son comúnmente consideradas como motivo de la importación "negativa" de acuerdo con la Food and Drug Administration (FDA), agencia federal que hace cumplir reglamentos para las micotoxinas. En 2001, hubieron sólo 4 de 1,781 detenciones de importación de cereales (granos) y productos de cereales (que incluyen productos procesados listos para el consumo) por la FDA que se debieron a las aflatoxinas, si bien las detenciones fueron más comunes para la contaminación de las importaciones de nueces y semillas. Sin embargo, varios estudios indican que los costos por hacer cumplir la norma a la economía y las oportunidades comerciales que se pierden a nivel mundial son sustanciales, por ejemplo un estudio estima que las pérdidas de cosechas (maíz, trigo, y maní) contaminadas por micotoxinas en Estados Unidos son de \$ 932 millones al año (CAST, 2003).

Una de las estrategias para reducir tanto los riesgos para la salud y la los costos económicos asociados con las micotoxinas es aumentar la conciencia entre los productores y manipuladores de alimentos de prácticas que reduzcan al mínimo las micotoxinas contaminación, y fomentar la adopción de directrices basadas en

procesos como buenas prácticas agrícolas prácticas (BPA) o buenas prácticas de fabricación (BPF) como lo recomienda la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (European Union Comments for the Codex Committee on Contaminants in Foods, 2010).

1.5 Generalidades sobre la luz ultravioleta no ionizante

La luz Ultravioleta C (UV-C) ocupa una banda de longitud de onda de 200-280 nm en la región no ionizante del espectro electromagnético su uso es relativamente barato y fácil; aunque su empleo está sujeto a ciertas precauciones de seguridad, la radiación con este tipo de luz resulta letal para la mayoría de los tipos de microorganismos (Bintsis *et al.*, 2000). Se sabe que dosis de luz UV-C de los 0.5 20 kJ/m² inhiben el crecimiento microbiano mediante la inducción de la formación de dímeros de pirimida que distorsionan la hélice de ADN bloqueando la replicación celular microbiana. Así las células se vuelven incapaces de reparar su ADN dañado por la radiación y mueren.

Sin embargo, existen sistemas de reparación tales como la fotorreconstitución o fotoreactivación y la reparación por escisión de bases y/o nucleótidos que pueden restaurar la integridad del ADN en las células microbianas expuestas. El mecanismo de reparación denominado fotorreactivación es un proceso enzimático, donde la enzima DNA-fotoliasa ejerce la acción reparadora sobre el DNA, la que consiste en monomerizar los dímeros de pirimidina. Este proceso es dependiente de luz y la enzima DNA-fotoliasa, proteína mono-mérica de 50-60 kDa, presenta dos cromóforos que absorben en el rango de luz UV-A (350-400 nm) y luz azul. La fotoliasa específica para CPD de microorganismos, denominada fotoliasa clase I, fue la primera de la familia de enzimas fotoliasas en ser caracterizada por Sanear en 1994. En plantas, las CPD fotoliasas designadas fotoliasas clase II han sido identificadas en distintas especies tales como maíz, arroz y trigo (Carrasco-Ríos, 2009).

La eficacia de la UV-C parece ser independiente de la temperatura en el intervalo de 5-37 °C, pero sí parece depender de la incidencia de la irradiación determinada por la estructura y la topografía de la superficie del producto tratado (Gardner y Shama, 2000), la fluencia (J/m^2) y la posición entre la fuente y la muestra. Además, la radiación con luz UV-C actúa indirectamente contra los microorganismos mediante la estimulación de mecanismos de defensa en los productos tratados, lo que retrasa la descomposición y la senescencia.

Existe evidencia que indica la posibilidad de utilidad de otras fuentes de irradiación para la desinfección de los organismos patógenos en una cierta gama de frecuencias que pertenecen al espectro electromagnético (Lagunas *et al.*, 2006) como la Radiofrecuencia (RF) que funciona entre 10 y 100 MHz, la cual se ha utilizado con éxito en la elaboración de alimentos así como para el control de insectos en las nueces con cáscara (Mitcham *et al.*, 2004). La IAEA (1991) informó que las dosis de irradiación gamma en el rango de 0,2-1,0 kGy son eficaces en el control de la infestación de insectos en los cereales. Aunque también se ha reportado que el tratamiento de radiación gamma a dosis de 3,0 kGy inhibe completamente el hongo en las semillas de maíz inoculadas con *Aspergillus flavus*, los irradiadores gamma de alimentos son costosos y existe preocupación por la aceptación pública de los alimentos irradiados (Nagy y Souzan, 2004).

Otros métodos sostenibles que se aplican en la actualidad para reducir la carga microbiana en frutas y verduras son los tratamientos con luz ultravioleta (Allende *et al.*, 2003; Guerrero y Barbosa, 2004; Tran y Farid, 2004; Yaun *et al.*, 2004; Allende *et al.*, 2006). El empleo de la radiación no ionizante ha sido reportado en el mejoramiento de productos postcosecha tanto en granos, frutos y cereales (Andrade-Cuvi *et al.*, 2010) en donde se ha observado que ésta técnica prolonga la vida útil de algunos frutos retrasando la aparición de síntomas de daño, así como también una disminución en la presencia de hongos.

La tecnología de la radiación UV-C es ampliamente utilizado en la industria alimentaria para la desinfección del aire, el control de la contaminación de las superficies de las plantas y los materiales de embalaje, el almacenamiento postcosecha de frutas y verduras (Rivera *et al.*, 2007; Begum *et al.*, 2009). De los primeros estudios se encuentra el realizado por Gritz *et al.* (1990) quienes al comparar la efectividad de la radiación UV-B y UV-C reportaron que la radiación UV-C a 250 mW/cm² durante 20 minutos de exposición funciona como un tratamiento germicida efectivo en el control de *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Acanthamoeba*, *Candida* y *Aspergillus niger* en la esterilización de lentes de contacto rígidos gas permeables.

Stevens *et al.* (1997) informaron de la inactivación de *Rhizopus stolonifer* en tomates con tratamientos de UV-C. Otros estudios que se encuentran en la literatura científica indican la aplicación del tratamiento germicida UV-C en la fresa y melocotón (Baka *et al.*, 1999). Marquenie *et al.* (2002) demostraron la inactivación de *Botrytis cinerea* y *Monilinia fructicola* en fresas y cerezas con tratamientos UV -C en 0.50 y 0.10 J cm⁻² respectivamente, así también Kinay *et al.* (2005) utilizaron tratamientos con UV-C para inactivar *Penicillium digitatum* en mandarinas. En el caso de granos se ha utilizado para inactivar *Aspergillus* y *Penicillium*, indicando un efecto positivo sobre la calidad el trigo (Hidaka y Kubota 2006).

Existen pocos trabajos con relación al uso de la luz UV-C en el control de la microbiota presente en granos de maíz entre los que podemos mencionar el realizado para mejorar la calidad sanitaria del grano de maíz (*Zea mays* L.) empleado para elaborar tortilla, en donde se reportó un efecto positivo en la reducción de la microbiota natural con tratamientos de entre 10 y 30 minutos de exposición ante la UV-C (15W, 254nm), así mismo, se encontró que tanto el tiempo, como la intensidad de la radiación dependen de la variedad del grano y del hongo que se pretende controlar (Rodríguez *et al.*, 2011).

Debido a lo anterior se consideró importante probar un método físico como la radiación UV-C para el control de hongos en maíz palomero ya que existe poca información al respecto.

CAPITULO II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 Objetivo general

Determinar el efecto de la luz UV no ionizante en la microbiota presente en granos de maíz palomero a granel, envasado e industrializado utilizando diferentes tiempos de irradiación como método alternativo para mejorar la calidad sanitaria del grano.

2.2 Objetivos particulares

Conocer la microbiota inicial presente en maíz palomero en diferentes muestras a granel, envasadas e industrializadas mediante el método de placa agar para evaluar la calidad sanitaria.

Identificar a nivel de género y/o especie los hongos presentes en las muestras analizadas mediante claves especializadas considerando la macro y micromorfología con el fin de determinar la microbiota inicial.

Caracterizar las dimensiones físicas del grano de maíz palomero.

Evaluar el efecto de la luz UV-C sobre la microbiota presente en las muestras de grano de maíz palomero a granel, envasado e industrializado con diferentes tiempos de exposición a una longitud de onda de 254 nm con una corriente de salida de 65.2 W/cm².

Determinar la presencia y concentración de aflatoxinas y fumonisinas totales en las muestras evaluadas mediante la técnica de inmunoafinidad por columnas de anticuerpos monoclonales.

Con el propósito de evaluar otros efectos de la irradiación con luz UV-C sobre las propiedades físicas del grano se planteó realizar para el testigo y el tratamiento con mejor reducción de la microbiota una prueba de contenido de humedad del

grano por el método de peso seco, además de una prueba de reventado usando una maquina casera convencional a 185 °C durante 50 segundos con 3 repeticiones, así como la siembra de las rosetas mediante la técnica de papel secante incubando a 25°C durante 8 días.

2.3 Hipótesis

Debido a que el maíz palomero es un producto de circulación y demanda moderada en algunos sectores del mercado mexicano se espera encontrar especies de hongos asociados al grano principalmente de almacén.

La luz UV-C ha mostrado buenos resultados en el mejoramiento de la calidad sanitaria de algunas semillas, por lo que se espera presente una respuesta positiva en el grano de maíz palomero.

CAPITULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Actividades preliminares

Para la realización de este trabajo se realizaron una serie de actividades durante la etapa de planeación para llevar a cabo el cumplimiento de todos los objetivos tanto particulares como el objetivo general mismas que se describen a continuación.

3.1.1 Ubicación del experimento

El presente estudio se desarrolló en el Centro de Asimilación Tecnológica (CAT) en la Unidad de Investigación en Granos y Semillas de la Universidad Nacional Autónoma de México (FES-Cuautitlán-UNAM) con el apoyo del Proyecto PAPIME-PE204011, así como en el Laboratorio de Ingeniería Transdisciplinaria de la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación de Ingeniería Mecánica y Eléctrica del Instituto Politécnico Nacional (SEPI-IPN).

3.1.2 Procedencia y colecta de las muestras

Se analizaron 15 muestras independientes de maíz palomero. Las primeras 5 muestras fueron de maíz palomero a granel compradas en 3 mercados fijos y 2 mercados ambulantes representativos de los municipios de Cuautitlán de Romero Rubio y Cuautitlán Izcalli, se obtuvieron 1000 gramos de cada muestra y se realizó una entrevista no formal a cada vendedor para investigar sobre su procedencia y precios.

Las siguientes 5 muestras fueron de maíz palomero envasado, se eligieron las marcas comerciales disponibles en la zona de Cuautitlán Izcalli, Estado de México, se compraron 2 paquetes de 500 gramos de cada una de las marcas elegidas.

Las últimas 5 muestras fueron de maíz palomero industrializado, se consultó un artículo de la Revista PROFECO de Febrero de 2008 para elegir las 5 marcas más

ventas en México, una vez elegidas las marcas se procedió a comprar en centros comerciales de Cuautitlán Izcalli en el Estado de México los paquetes de cada marca para completar una cantidad similar a 1000g, todas las muestras fueron de sabor natural. Las características generales de las 15 muestras como tipo, marca, procedencia, precio y lote se muestran en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Características generales de las muestras evaluadas (Elaboración Propia 2015).

Muestra	Proceso	Procedencia	Precio (\$/ kg)	Lote/Cosecha
1	Granel	México	20.00	-
2	Granel	México	24.00	-
3	Granel	México	28.00	-
4	Granel	México	22.00	-
5	Granel	México	25.00	-
6	Envasado	E. U. A.	25.80	LB0DL / 12-2011
7	Envasado	México	22.20	2212613
8	Envasado	Canadá	19.80	689222012
9	Envasado	E.U.A.	18.00	681114512
10	Envasado	México	17.20	120712M70290
11	Industrial	México	* 58.95	TL2B01
12	Industrial	México	*55.79	21631B
13	Industrial	México	*68.42	212321330502
14	Industrial	México	*52.63	217336
15	Industrial	México	*52.63	20072AAC

(*Precio calculado a partir del precio de empaques comerciales con 95g).

3.1.3 Investigación de mercado de las muestras a granel

En las muestras compradas a granel se realizó una entrevista al encargado o vendedor en cada uno de los 5 puestos visitados para obtener información acerca de la procedencia, tiempo de anaquel y costo del producto, el cuestionario constó de 5 preguntas como se muestra a continuación (Figura 5).

1. ¿Dónde compra usted su producto?
 - a) Central de Abastos (Especifique sucursal)
 - b) Con algún proveedor foráneo (Especifique cuál)
 - c) Otro (Especifique cuál)
2. El maíz palomero es un producto que usted vende:
 - a) muy frecuente
 - b) regularmente
 - c) poco frecuente
 - d) casi nunca
3. Aproximadamente ¿cuánto maíz palomero vende por semana?
4. ¿Cada cuánto realiza usted el surtido de este producto?
5. ¿Cuál es el precio actual de venta por kilo de este producto en su establecimiento?

Figura 5. Entrevista no formal para la procedencia a granel (Elaboración Propia 2015).

3.1.4 Caracterización del tamaño de grano

Se midieron tres dimensiones en la semilla entera, estas dimensiones fueron el ancho, el largo y el espesor. Para cada muestra se obtuvieron medidas de 50 granos mediante un Vernier estándar y se registraron los datos.

3.2 Determinación de la Micobiota

Con el propósito de conocer la calidad sanitaria de las muestras seleccionadas se llevó a cabo la determinación de la micobiota inicial (endógena y exógena) realizada por el método de placa agar, utilizando los medios de cultivo de Agar Papa Dextrosa (PDA), Agar Papa Dextrosa Tergitol (PDAT) y Agar Malta Sal (MSA), la preparación de estos medios (Figura 6) se realizó según Moreno, 1998 (ANEXO I).



Figura 6. Preparación de los medios de cultivo para la determinación de la micobiota inicial.

3.2.1 Determinación de la microbiota inicial endógena

Para la determinación de la microbiota inicial endógena se evaluaron 120 granos para cada muestra utilizando la técnica de siembra en placa agar, se usaron 2 medios de cultivo PDA y MSA, se realizaron 2 repeticiones de 30 granos por cada uno de los medios de cultivo.

Con el uso de guantes estériles se contaron 120 granos por cada muestra y fueron colocadas en frascos de vidrio previamente esterilizados (Figura 7). Cada muestra se sometió a una desinfección superficial con hipoclorito de sodio al 2% (se usaron 300 ml en total de ésta solución).



Figura 7. Distribución al azar de las muestras para la determinación de la microbiota inicial.

En cada frasco se adicionaron 15 ml de la solución de hipoclorito, se agitó suavemente durante un minuto, se escurrió el excedente y se enjuagaron los granos con agua destilada estéril (Figura 8). Para las muestras de palomitas de microondas se realizó un lavado previo con agua destilada caliente para la remoción de los compuestos que trae el producto (aparentemente aceites) antes de desinfectar superficialmente con hipoclorito.



Figura 8. Lavado de los granos antes de la siembra.

Una vez terminada la desinfección superficial se procedió a la siembra de los granos en los medios de cultivo bajo condiciones de asepsia en una campana de flujo laminar marca VECO. Los granos de maíz palomero se colocaron sobre toallas de papel secante previamente esterilizadas, y con la ayuda de pinzas estériles se sembraron 15 granos por cada caja Petri (Figura 9).



Figura 9. Técnica de siembra en la Campana de Flujo Laminar.

Posteriormente todas las muestras fueron almacenadas en paneras previamente lavadas y desinfectadas con alcohol y colocadas en una incubadora PRECISION SCIENTIFIC Low Temperature Incubator modelo 815 a una temperatura de 25°C en oscuridad durante 8 días.

3.2.2 Determinación de la micobiota inicial exógena

Para la determinación de la micobiota inicial exógena se evaluaron también 120 granos para cada muestra utilizando la técnica de siembra en placa agar al igual que en la micobiota endógena. Se usaron los medios de cultivo: Agar Papa Dextrosa Tergitol (PDAT) y Agar Malta Sal al 6% (MSA), se hicieron 2 repeticiones de 30 granos por cada uno de los medios de cultivo.

La siembra de las muestras de maíz palomero se realizó directamente, sin desinfectar superficialmente los granos, una vez contadas los 120 granos se colocaron en frascos de vidrio estériles. Posteriormente bajo condiciones de asepsia en una campana de flujo laminar se procedió al etiquetado de las cajas de Petri con los medios de cultivo y los granos se colocaron sobre toallas de papel secante previamente estériles y con pinzas esterilizadas se sembraron los granos de manera equidistante en las placas de agar tratando de que el embrión del grano quedará expuesto hacia arriba. Se sembraron también 2 repeticiones de 30 granos cada una por cada medio colocando 15 granos por caja Petri. Una vez concluida la siembra, las muestras fueron incubadas a 25°C en oscuridad por 8 días.

Cuantificación de la micobiota

Una vez concluido el periodo de incubación, tanto la micobiota endógena como exógena, fueron cuantificadas el número de colonias presentes en cada grano, empleando un microscopio estereoscópico marca Olympus modelo S2-PT. Los resultados fueron vaciados en un formato previamente elaborado (ANEXO 2).

3.2.3 Aislamiento e identificación de la micobiota

Terminado el conteo fueron aisladas las cepas que se identificaron como diferentes por sus características macromorfológicas de cada colonia. El aislamiento se llevó a cabo bajo condiciones de asepsia, se sembró cada cepa por duplicado en cajas Petri con medio de cultivo PDA para los hongos de campo y deterioro avanzado y Czapek para los hongos de almacén. Fueron incubadas a una temperatura de 25°C en oscuridad durante 8 días.

Una vez aisladas las colonias y obtenidos los cultivos axénicos de los hongos presentes en el maíz palomero, se guardaron en refrigeración a 5°C para su posterior identificación con claves especializadas.

Los géneros *Cladosporium*, *Mucor*, *Paecilomyces* y *Rhizopus* fueron identificados a nivel de género siguiendo las claves de Wartham *et al.* (1998), la identificación de *Chaetomium* se realizó según las claves de Hanlin (1998), de acuerdo a su macro y micromorfología. Para la caracterización de la micromorfología se elaboraron preparaciones semipermanentes con azul de algodón y lactofenol que fueron observadas en un microscopio compuesto marca Olympus modelo B-H2 describiendo las características de las estructuras observadas.

El género *Alternaria* se identificó a nivel de especie de acuerdo con las claves morfológicas especializadas de Simmons (2007). La cepa aislada de éste género fue sembrada mediante la técnica de asada en cajas Petri en dos medios de cultivo Agar Papa Zanahoria (PCA) y Agar V8 (ANEXO 1) e incubada a temperatura ambiente durante 8 días en ciclos de 12 h de luz blanca por 12 de oscuridad.

Posteriormente se observó la macromorfología de las colonias describiendo las características de desarrollo para ambos medios de cultivo utilizados. Para la observación de la micromorfología de la cepa de *Alternaria* se realizaron preparaciones semipermanentes con azul de algodón y fueron observadas en un

microscopio compuesto marca Olympus modelo B-H2. La descripción de la macro y micromorfología de las colonias fueron registradas en un formato previamente elaborado (ANEXO 2) así como fotográficamente.

La identificación de los géneros *Aspergillus* y *Eurotium* a nivel de especie se realizó de acuerdo con las claves especializadas de Klich (2002). Para la siembra se prepararon previamente los siguientes medios de cultivo (ANEXO 1): Agar Czapek Extracto de levadura con 20% de Sucrosa (CY20S), Agar Czapek Dox (CZ), Agar Extracto de Malta (MEA) y Agar Czapek Extracto de Levadura (CYA25, CYA37). Así mismo, se prepararon viales con un medio de agua-agar 0.2% y Tween 80 al 0.05% (Pitt & Hocking, 1997), los cuales fueron esterilizados en autoclave durante 20 minutos a 121°C y 15 libras de presión, posteriormente se mantuvieron en refrigeración durante 72 horas antes de ser usados.

De los cultivos axénicos de *Aspergillus* y *Eurotium* se tomó una asada de cada cepa y se preparó una suspensión de esporas en los viales de agua-agar previamente preparados. Los viales con la suspensión de esporas fueron homogenizados en un Vortex marca Genie 2, por 60 s y posteriormente se tomó una alícuota de 4 µl sembrando el hongo en tres puntos equidistantes en las diferentes placas con medios de cultivo. Todo esto se realizó bajo condiciones de asepsia en una campana de flujo laminar. Al término de la siembra las placas de agar fueron incubadas a 25°C en oscuridad durante 7 días, a excepción de las placas de CYA37, las cuales se incubaron a 37°C. Posteriormente se identificaron a nivel de especie de acuerdo a sus características macro y micromorfológicas.

La cepa aislada de género *Bipolaris* se identificó de acuerdo con Wartham *et al.* (1998) mediante la técnica de explante, la cual consistió en sembrar una porción tomada del centro de la cepa aislada con aguja de disección - 0.5 cm² aproximadamente - en placa Petri con medio de cultivo PDA y se incubaron a 25°C durante 8 días en oscuridad. Posteriormente se hizo la caracterización micromorfológica observando en un microscopio compuesto marca Olympus

modelo B-H2 preparaciones montadas en lactofenol, se tomaron fotografías digitales de todas las estructuras características que permiten su identificación a nivel de especie mediante claves especializadas usando una cámara Canon modelo EOS REBEL-T1i adaptada al microscopio.

La identificación de la cepa aislada de género *Drechslera* se realizó de acuerdo con Wartham *et al.* (1998), se realizó la siembra en placa Petri con medio de cultivo PDA a partir de la cepa aislada, esta placa fue incubada a 25°C durante 8 días en oscuridad. Posteriormente se realizaron preparaciones con lactofenol que fueron observadas en un microscopio compuesto marca Olympus modelo B-H2 para la caracterización de la micromorfología, todas las observaciones fueron registradas fotográficamente para la identificación mediante claves especializadas.

Las cepas aisladas del género *Fusarium* fueron identificadas a nivel de especie de acuerdo con Leslie (2006). A partir de las cepas aisladas se llevó a cabo una siembra por picadura en 3 puntos equidistantes en caja Petri con Infusión de Papa Dextrosa Agar (IPDA) y Agar Clavel (ANEXO 1). Posteriormente las cepas se incubaron a 25 °C por 7 días en fotoperiodo de luz negra y blanca por 12 horas alternando con 12 horas de oscuridad a temperatura ambiente.

Para cada cepa a los 7 días de incubación se midió el diámetro de la colonia con un Vernier y se determinaron las características de la macromorfología. Se realizaron preparaciones para describir las características micromorfológicas de las cepas usando como medios de montaje alcohol polivinilico y lactofenol ambos adicionados con azul de algodón (Figura 10), para la observación y medición de estructuras usadas en la literatura para identificación - como esporodoquios, micro y macroconidios, entre otras - se utilizó un microscopio óptico de campo claro con ocular micrométrico de x7. Se realizaron registros escritos utilizando el formato de identificación propuesto en la literatura (ANEXO 2). Se tomaron fotografías digitales en una cámara Canon modelo EOS REBEL-T1i adaptada al microscopio.

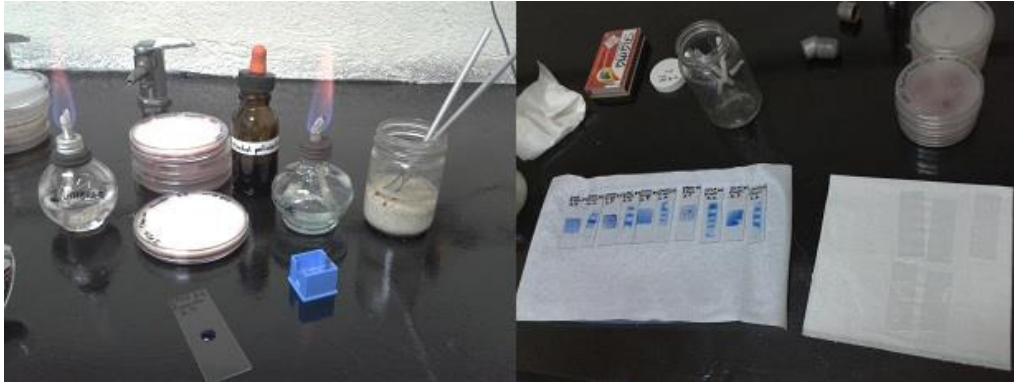


Figura 10. Elaboración de preparaciones montadas en alcohol polivinílico y lactofenol.

Las cepas aisladas del género *Penicillium* se identificaron a nivel de especie de acuerdo con Pitt (1979). Se utilizó un clúster de identificación de 7 placas Petri con los medios Agar Extracto de Malta al 2% (EMA), Agar Nitrato con Glicerol al 25% (G25N), Agar Extracto de Levadura Sacarosa (YES), Agar Czapek Dox (CZ) y Agar Extracto de Levadura (CYA5, CYA25, CYA37), de éste último medio se montaron 3 placas para su incubación a diferentes temperaturas (ANEXO 1).

Previo a la siembra se prepararon suspensiones de esporas obteniendo una asada de cada cepa colocadas en viales con un medio de Agar 0.2% y Tween 80 al 0.05% esterilizados en autoclave por 20 minutos a 121°C y 15 libras de presión (Pitt & Hocking, 1997), los cuales se pusieron en refrigeración durante 72 horas antes de sembrarse. La siembra se realizó dentro de la campana de flujo laminar mediante la técnica de 3 puntos, cada vial fue homogenizado con ayuda un agitador tipo vórtex durante un minuto para inocular las placas usando una micropipeta se colocaron 4 µl en cada punto en las 7 placas, este procedimiento se repitió para toda las cepas. Al término de la inoculación las placas fueron incubadas a 25°C en oscuridad durante 7 días, a excepción de las placas de CYA, las cuales se incubaron a 37°C y las placas CYA 5°C.

Concluido el tiempo de incubación a todas las placas con las colonias desarrolladas se les midió su diámetro con un Vernier estándar y fueron fotografiadas para su identificación. La micromorfología fue observada mediante la elaboración de preparaciones semipermanetes montadas en lactofenol y alcohol polivinilico ambos adicionados con azul de algodón las cuales fueron observadas y se midieron las estructuras morfológicas características de este género para poder ser identificado a nivel de especie con ayuda del microscopio óptico de campo claro con ocular con un micrómetro previamente calibrado. Los datos obtenidos de las observaciones fueron capturados en los formatos recomendados en la literatura (ANEXO 2) y se compararon las características observadas de las cepas en los diferentes medios de cultivo con claves especializadas hasta lograr su identificación.

3.3 Evaluación del efecto de la luz UV-C sobre la micobiota presente en muestras de grano de maíz palomero

Para la evaluación del efecto de la luz UV-C sobre la micobiota presente en el maíz palomero se planteó un Diseño Experimental de Bloques Completos al Azar (DBCA) con diferentes tiempos de exposición - 0, 5, 10 y 20 minutos -, 15 muestras y 4 repeticiones, dando un total de 60 tratamientos, donde cada uno de los tratamientos consistió de 30 granos. En el Cuadro 5 se muestra el diseño experimental, la descripción detallada de los tratamientos y la aleatorización con la cual fueron realizadas las irradiaciones, siembra y revisión de la micobiota en todos los materiales.

Cuadro 5. Diseño experimental y aleatorización de los tratamientos (Elaboración Propia 2015).

Tratamiento	Muestra	Tiempo de exposición UV-C (minutos)	Repetición			
			II	III	IV	I
T1	Granel 2	10	1	40	41	80
T2	Granel 2	5	2	39	42	79
T3	Granel 2	0	3	38	43	78
T4	Granel 2	20	4	37	44	77
T5	Granel 5	10	5	36	45	76
T6	Granel 5	5	6	35	46	75
T7	Granel 5	0	7	34	47	74
T8	Granel 5	20	8	33	48	73
T9	Granel 1	10	9	32	49	72
T10	Granel 1	5	10	31	50	71
T11	Granel 1	0	11	30	51	70
T12	Grane 1	20	12	29	52	69
T13	Granel 4	10	13	28	53	68
T14	Granel 4	5	14	27	54	67
T15	Granel 4	0	15	26	55	66
T16	Granel 4	20	16	25	56	65
T17	Granel 3	10	17	24	57	64
T18	Granel 3	5	18	23	58	63
T19	Granel 3	0	19	22	59	62
T20	Granel 3	20	20	21	60	61
T21	Envasado 9	10	81	120	121	160
T22	Envasado 9	5	82	119	122	159
T23	Envasado 9	0	83	118	123	158
T24	Envasado 9	20	84	117	124	157
T25	Envasado 6	10	85	116	125	156
T26	Envasado 6	5	86	115	126	155
T27	Envasado 6	0	87	114	127	154
T28	Envasado 6	20	88	113	128	153
T29	Envasado 7	10	89	112	129	152
T30	Envasado 7	5	90	111	130	151
T31	Envasado 7	0	91	110	131	150
T32	Envasado 7	20	92	109	132	149
T33	Envasado 10	10	93	108	133	148
T34	Envasado 10	5	94	107	134	147
T35	Envasado 10	0	95	106	135	146
T36	Envasado 10	20	96	105	136	145
T37	Envasado 8	10	97	104	137	144
T38	Envasado 8	5	98	103	138	143
T39	Envasado 8	0	99	102	139	142
T40	Envasado 8	20	100	101	140	141
T41	Industrial 15	10	161	200	201	240
T42	Industrial 15	5	162	199	202	239

T43	Industrial 15	0	163	198	203	238
T44	Industrial 15	20	164	197	204	237
T45	Industrial 13	10	165	196	205	236
T46	Industrial 13	5	166	195	206	235
T47	Industrial 13	0	167	194	207	234
T48	Industrial 13	20	168	193	208	223
T49	Industrial 14	10	169	192	209	222
T50	Industrial 14	5	170	191	210	231
T51	Industrial 14	0	171	190	211	230
T52	Industrial 14	20	172	189	212	229
T53	Industrial 11	10	173	188	213	228
T54	Industrial 11	5	174	187	214	227
T55	Industrial 11	0	175	186	215	226
T56	Industrial 11	20	176	185	216	225
T57	Industrial 12	10	177	184	217	224
T58	Industrial 12	5	178	183	218	223
T59	Industrial 12	0	179	182	219	222
T60	Industrial 12	20	180	181	220	221

(Continuación de Cuadro 5)

La preparación del material experimental se realizó en la Campana de Flujo Laminar, donde se contaron 120 granos de maíz palomero para cada tratamiento con ayuda de pinzas esterilizadas y guantes desechables, los granos fueron colocados en sobres manila con solapa engomada de 90 g (Figura 11) previamente etiquetados - HI: humedad inicial, HF: humedad final, T1: temperatura inicial, T2: temperatura final, H1: hora inicial, H2: hora final, M: # de muestra, TE: tiempo de exposición -, los sobres fueron reservados en un contenedor de plástico con tapa desinfectado para ser transportados al laboratorio de la ESIME Zacatenco donde se realizó la radiación del material.

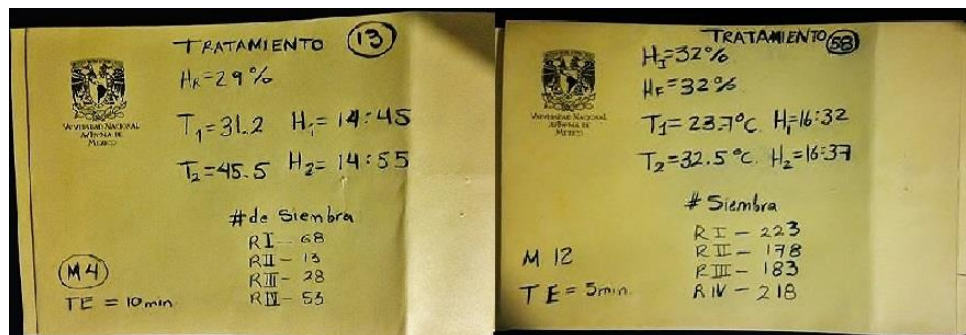


Figura 11. Etiquetado de sobres para la disposición de las muestras.

Todas las muestras fueron tratadas en un prototipo radiador de UV-C a 254nm de longitud de onda, una intensidad de salida de 65.2 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$, los granos fueron colocadas dentro de un tubo de cuarzo ubicado dentro del prototipo para ser tratadas, fue monitoreada la temperatura dentro del prototipo al iniciar y al finalizar la radiación (Figura 12), todos los granos tratados fueron colocados en frascos previamente esterilizados y etiquetados bajo condiciones de asepsia. Posteriormente los frascos fueron almacenados en contenedores de plástico con tapa y fueron transportados al laboratorio de fitopatología de UNIGRAS donde se realizó la determinación de la microbiota de los granos de maíz palomero tratados.



Figura 12. Tratamiento de los granos de maíz palomero en el prototipo radiador.

La determinación de la microbiota para todos los tratamientos de radiación se realizó en placas Petri con medio de cultivo MSA, todas las placas fueron incubadas a 25°C en oscuridad durante 8 días. Concluido el periodo de incubación las placas fueron revisadas mediante un microscopio estereoscópico, se cuantificó el número de colonias desarrolladas por grano y los datos obtenidos se registraron en los formatos de registro para microbiota (ANEXO 2), al término de la revisión de las placas todas las cepas encontradas se identificaron a nivel de género y/o especie, los aislamientos identificados y purificados se conservaron por distintos métodos de conservación de hongos microscópicos para formar parte de la Colección de Micoteca de UNIGRAS, así mismo, todo material biológico fue desechado de acuerdo a los protocolos de disposición final de éste laboratorio (ANEXO 3).

Diseño experimental

Los resultados fueron analizados bajo un análisis de varianza (ANOVA) y una comparación de medias por el método de Tukey con una $p \leq 0.05$ utilizando el programa estadístico SAS® 9.3, 2012.

3.4 Determinación de micotoxinas

La determinación de aflatoxinas y fumonisinas totales en las muestras de maíz palomero evaluadas se realizó mediante la técnica de inmunoafinidad por columnas de anticuerpos monoclonales, la cual se detalla a continuación para cada caso.

3.5.1 Determinación de aflatoxinas totales

La detección de aflatoxinas totales se realizó según VICAM (1999) aprobado por la AOAC, para lo cual se pesaron 25 g de cada muestra, se colocaron en un vaso de licuadora y se le adicionaron 2.5 g de sal y 50 ml de metanol 80% (ANEXO 1), se molió a velocidad máxima durante 2 minutos y se filtró en papel Whatman N°1. En 40 ml de agua destilada se colocaron 10 ml del eluido y se filtró en papel fibra de vidrio. Posteriormente se adicionaron 10 ml del filtrado en la columna AflaTest y se le realizaron 2 lavados con 10 ml de agua destilada cada uno. Las aflatoxinas totales se recuperaron en un vial con 1ml de metanol grado HPLC al que se le adicionó 1ml de revelador AflaTest y el vial se colocó en un agitador Vortex por aproximadamente 5 segundos con la finalidad de homogenizar la mezcla. Finalmente el vial se colocó en el fluorómetro - previamente calibrado -, la lectura se tomó al cabo de 1 minuto de introducida la celda (Figura 13).



Figura 13. Procedimiento para la determinación de aflatoxinas totales.

3.5.2 Determinación de fumonisinas totales

Para la detección de fumonisinas se siguió el procedimiento descrito por VICAM (1999), se inició preparando las soluciones PBS 0.1%, PBS y metanol 80% (ANEXO 1), después se pesaron 25 g de cada muestra a la que se adicionaron 2.5 g de cloruro de sodio (sal) y 50 ml de metanol 80%, se licuó a máxima velocidad por 2 minutos y se hizo pasar a través de papel filtro aflautado, este filtrado se llevó a cabo dentro de la campana de extracción. Se tomaron 10 ml y se colocaron en 40 ml de PBS, esto se pasó a través de un filtro de 1 μm de microfibra hasta obtener 10 ml, el eluido se colocó en la columna de inmunoafinidad (FumoniTest), terminada la filtración se adicionaron 10 ml de PBS 0.1%, al terminar de filtrar se adicionaron 10 ml de PBS y se terminó con 1 ml de metanol, el lavado se obtuvo en un vial de 3ml (Figura 14).

Por último el fluorómetro fue calibrado para esta prueba. Una vez obtenido el eluido, a cada tubo de ensaye se le adicionó 1ml de la solución reveladora A y B, las cuales fueron mezcladas previamente, se homogenizó mediante un agitador Vortex y se introdujeron los viales en el fluorómetro de uno por uno, las lecturas se tomaron al cabo de 240 segundos para todas las muestras.



Figura 14. Procedimiento para la determinación de fumonisinas totales.

3.5 Efecto de la irradiación con luz UV-C sobre las propiedades físicas y sanitaria del grano palomero

Para la caracterización de los efectos de la irradiación con luz UV-C sobre los granos de maíz palomero se realizaron 3 pruebas, la determinación del porcentaje de reventado de los granos, la determinación de la microbiota en el grano reventado, y por último la determinación del contenido de humedad. Se analizaron los resultados de los tratamientos de radiación aplicados y se escogió el tiempo de exposición con mayor porcentaje de reducción para aplicar estas tres pruebas usando el T0 - 0 minutos de exposición - como referencia para la evaluación. Los procedimientos a detalle de cada prueba se muestran a continuación.

3.5.1 Determinación del porcentaje de reventado del grano

Para la determinación del porcentaje de reventado del maíz palomero se realizó una prueba que consistió de 3 repeticiones por muestra y 50 granos para cada repetición, la preparación del material se hizo dentro de la Campana de Flujo Laminar, los granos fueron contados y colocados dentro de sobres manila con solapa engomada de 90 g y etiquetados, todos los sobres se guardaron en una caja de plástico con tapa transparente estéril para su traslado al laboratorio donde todas las muestras fueron expuestas a dos tratamientos T0 (0 minutos) y T1 (20 minutos), se utilizó el mismo prototipo irradiador del experimento descrito en el apartado 3.4 – luz UV-C a 254nm de longitud de onda con una intensidad de salida de $65.2 \mu\text{w}/\text{cm}^2$ –, al finalizar los granos de cada tratamiento fueron

colocados en frascos de vidrio con tapa previamente esterilizados en la autoclave durante 20 minutos a 15 libras de presión para su posterior traslado al laboratorio de UNIGRAS, donde se montó el equipo para el reventado.

El reventado de los granos se realizó mediante una maquina casera convencional a 185 °C durante 50 segundos en un ambiente estéril, el conteo de las rosetas se realizó con la ayuda de guantes quirúrgicos desechables y pinzas flameadas para evitar cualquier contaminación del material (Figura 15), las rosetas fueron colocadas en recipientes de plástico con tapa y transportados a la Campana de Flujo Laminar para ser sembradas.



Figura 15. Prueba de reventado del maíz palomero.

3.5.2 Determinación de la micobiota en el grano reventado (rosetas)

La determinación de la micobiota en las rosetas de maíz palomero se realizó por el método de papel secante (Neergaard, 1977). Previo a la prueba de reventado se preparó el material para ello se utilizaron cajas Petri de vidrio, las cuales se lavaron y secaron, se colocaron dentro de cada caja 2 círculos de papel filtro, las cajas se empaquetaron en bolsas de polietileno de alta densidad, cada bolsa contuvo 10 cajas Petri y fueron selladas, los paquetes fueron esterilizados en autoclave durante 20 minutos a 121°C y a 15 libras de presión (Figura 16).



Figura 16. Preparación de las cajas Petri por el método de papel secante.

Al terminar la prueba de reventado, las rosetas fueron colocadas en recipientes de plástico estériles dentro de la Campana de Flujo Laminar previamente para comenzar la siembra. Los paquetes esterilizados se abrieron y se sacaron las cajas Petri para ser etiquetadas con plumón indeleble, posteriormente con ayuda de una micropipeta se colocaron 4 ml de agua esterilizada y se sembraron las rosetas de maíz con pinzas flameadas en mechero (Figura 17). El experimento consistió de 30 tratamientos, 3 repeticiones por cada tratamiento y 15 rosetas por cada repetición. Las cámaras húmedas se incubaron a 25°C por 8 días, al término de este periodo las placas fueron revisadas mediante un microscopio estereoscópico, los resultados fueron capturados en el formato de registro de micobiota (ANEXO 2).



Figura 17. Siembra de las rosetas de maíz palomero.

3.5.3 Determinación del contenido de humedad

Para la determinación del contenido de humedad se siguió el método de secado en estufa con base en el peso seco (ISTA, 2010). Se pesaron en una balanza analítica cajas de aluminio seriadas junto con su tapa, ambas foliadas, se anotaron los pesos de las cajas con sus tapas en un formato previamente elaborado (ANEXO 2).

Se colocaron 10 semillas por cada caja, se pesaron y anotaron los pesos de las cajas con semillas, se realizaron 2 repeticiones por muestra. Todas las muestras fueron llevadas a una estufa de convección por gravedad marca Lindberg/Blue M 260° C, las cajas se colocaron en la rejilla destapadas, y se dejaron secar durante 72 horas a 103°C (Figura 18).

Una vez concluido el periodo de secado, fueron sacadas todas las cajas de la estufa y se les colocó sus tapas, después fueron puestas dentro de un desecador donde se dejaron enfriar para ser transportadas hasta la balanza dónde se pesaron nuevamente y se registraron los datos en el formato inicial.



Figura 18. Secado de las muestras en la estufa de convección por gravedad.

El contenido de humedad se calculó de acuerdo a lo establecido por la ISTA (2010) por la siguiente fórmula:

$$(M2 - M3) \times \frac{100}{(M2 - M1)}$$

en donde:

M1=peso en gramos de la caja de aluminio y su tapa

M2=peso en gramos de la caja, su tapa y la semilla antes del secado en la estufa.

M3=peso en gramos de la caja, su tapa y la semilla después del secado.

Se determinó el contenido de humedad para dos de los tratamientos de exposición a luz UV-C, el tratamiento de cero minutos (T0) usado como control, y para el tratamiento de 20 minutos (T3).

CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Investigación de mercado de las muestras a granel

De las entrevistas realizadas durante la recopilación del material se realizó el Cuadro 6, donde se observa que el grano de maíz palomero que se oferta en los principales mercados muestreados de los municipios de Cuautitlán y Cuautitlán Izcalli tienen 3 procedencias, la Central de abastos de Tultitlán, la de Iztapalapa y el mercado de la Merced, también se puede observar que este producto tiene una frecuencia de comercio regular, que el producto es surtido varias veces por semana en los locales establecidos mientras que en los mercados itinerantes suelen surtir solo una vez, así como también que el precio es mayor en los mercados fijos que en los itinerantes con una diferencia promedio de 4.66 pesos.

Cuadro 6. Resultado de las entrevistas realizadas durante la colección de las muestras a granel.

Muestra	Tipo de Mercado	Procedencia comercial	Frecuencia de venta	Venta semanal promedio	Compra semanal promedio	Precio por kilo (pesos)
Granel 1	Itinerante	Central de abastos Tultitlán	Regularmente	5 kg	Cada semana	20
Granel 2	Fijo	Central de abastos Tultitlán	Regularmente	7 kg	Cada semana	24
Granel 3	Fijo	La Merced	Muy frecuente	10 kg	3 veces por semana	28
Granel 4	Itinerante	Central de abastos Iztapalapa	Regularmente	7 kg	Cada semana	22
Granel 5	Fijo	Central de abastos Iztapalapa	Muy frecuente	8 kg	2 veces por semana	25

4.2 Caracterización del tamaño de grano

Se realizó la estadística descriptiva de los datos colectados (Cuadro 7), misma que nos permitió observar que las muestras son heterogéneas para el largo de grano ya que esta dimensión física presentó los valores más altos de desviación estándar (0.09cm), mientras que el ancho y el espesor mostraron valores muy

pequeños de desviación estándar por lo que para estas dos dimensiones las muestras resultaron ser homogéneas.

Cuadro 7. Dimensiones físicas del grano en las muestras de maíz palomero colectadas en 2012 en D.F. y Área Metropolitana.

Muestra	Dimensiones físicas (cm)		
	Largo	Ancho	Espesor
*(1) Granel 1	0.862 ± 0.05	0.556 ± 0.05	0.427 ± 0.05
*(2) Granel 2	0.864 ± 0.09	0.534 ± 0.05	0.438 ± 0.06
*(3) Granel 3	0.895 ± 0.081	0.585 ± 0.06	0.439 ± 0.06
*(4) Granel 4	0.882 ± 0.07	0.571 ± 0.06	0.46 ± 0.06
*(5) Granel 5	0.867 ± 0.05	0.579 ± 0.05	0.47 ± 0.07
*(6) Envasado 1	0.877 ± 0.06	0.568 ± 0.05	0.454 ± 0.06
*(7) Envasado 2	0.823 ± 0.06	0.581 ± 0.05	0.457 ± 0.06
*(8) Envasado 3	0.749 ± 0.07	0.558 ± 0.08	0.468 ± 0.06
*(9) Envasado 4	0.856 ± 0.07	0.587 ± 0.06	0.477 ± 0.06
*(10) Envasado 5	0.82 ± 0.07	0.528 ± 0.06	0.442 ± 0.06
*(11) Industrial 1	0.85 ± 0.05	0.607 ± 0.05	0.449 ± 0.06
*(12) Industrial 2	0.905 ± 0.07	0.55 ± 0.05	0.47 ± 0.06
*(13) Industrial 3	0.839 ± 0.07	0.598 ± 0.07	0.468 ± 0.07
*(14) Industrial 4	0.805 ± 0.08	0.557 ± 0.07	0.456 ± 0.07
*(15) Industrial 5	0.782 ± 0.08	0.554 ± 0.07	0.479 ± 0.07

*Claves de referencia usadas en la Figura 20

Se hizo también un análisis de la varianza y una prueba de medias (DHS) mediante el programa SAS[®] 9.3 2012, en donde se observó que para las tres dimensiones físicas evaluadas (largo, ancho y espesor), hubo diferencia significativa entre todas las muestras (Cuadro 8, Figura 19).

Cuadro 8. Análisis de varianza de las dimensiones físicas evaluadas en muestras de maíz palomero colectados en 2012 en D.F. y Área Metropolitana.

Parámetro	F.V.	g.l.	S. C.	C.M	F	Valor-P
Largo	Muestra	14	1.28515	0.0917962	19.13	0.0000 **
	Error	735	3.5266	0.0047981		
	Total	749	4.81175			
Ancho	Muestra	14	0.350387	0.0250276	7.08	0.0000 **
	Error	735	2.59655	0.00353272		
	Total	749	2.94694			
Espesor	Muestra	14	0.167847	0.011989	3.09	0.0001 **
	Error	735	2.8561	0.00388585		
	Total	749	3.02395			

FV = fuente de variación; gl = grados de libertad; SC = suma de cuadrados; CM = cuadrados medios; F = Estadístico de Snedecor; **: altamente significativo ($p \leq 0.001$).

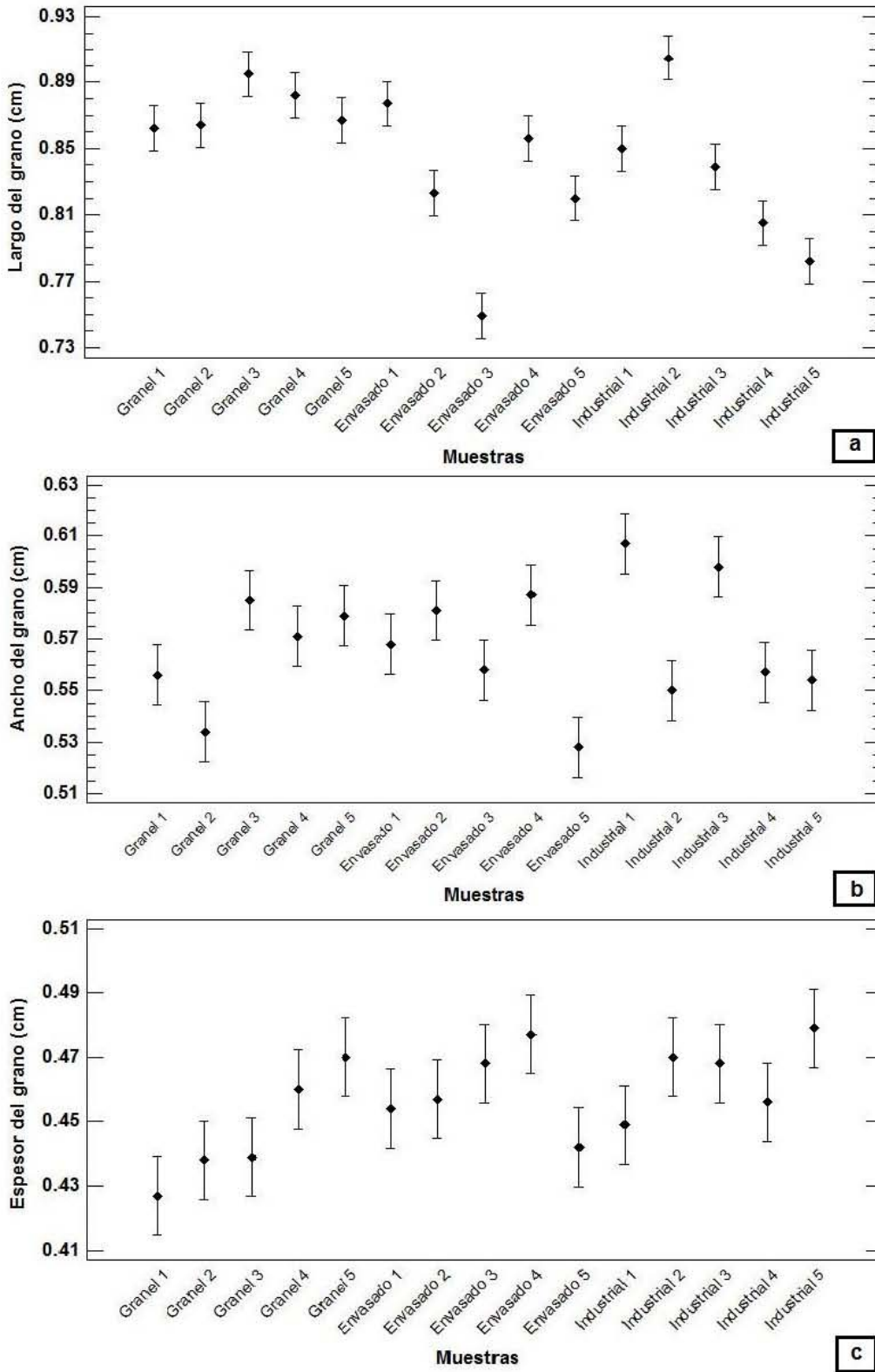


Figura 19. Comparación de medias en las dimensiones físicas del grano de maíz palomero: (a) largo, (b) ancho y (c) espesor.

Las medias de las dimensiones físicas evaluadas en los granos fueron usadas para la elaboración de una lámina mediante el programa Adobe Illustrator CC donde se puede apreciar de forma tridimensional la caracterización realizada a todas las muestras de maíz palomero (Figura 20).

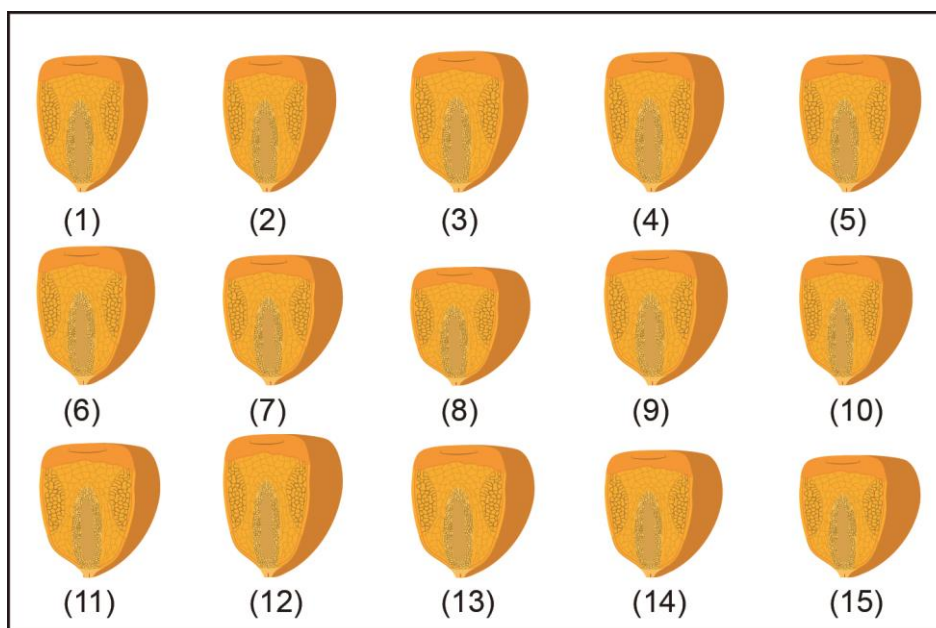


Figura 20. Caracterización en 3D de las dimensiones físicas de grano en muestras de maíz palomero colectadas en 2012 en D.F. y Área Metropolitana.

De acuerdo con Gómez et al. (2006a; 2006b) en el periodo de 1962 a 1999 el sistema de comercialización del maíz en México era controlado por la extinta Comisión Nacional de Subsistencia Popular la cual favorecía el abasto, sin considerar los aspectos de calidad intrínseca, es a partir de la apertura de mercados internacionales como el TLCAN, y después de la desaparición de aranceles al maíz en 2008 que se retoma la calidad y el alto valor agregado. El maíz palomero se encuentra dentro del grupo de granos con alto valor agregado (Aragón *et al.*, 2012) y de acuerdo con Mauricio *et al.* (2004) entre las propiedades importantes para su clasificación están el tamaño del grano, su gravedad específica y su dureza. Figueroa *et al.* (2013) caracterizaron 3 dimensiones para el tamaño de grano: largo, ancho y espesor, en el caso del maíz palomero Toluqueño (*Zea mays everta*) el tamaño promedio del grano fue 1.10cm de largo,

0.53cm de ancho y 0.41cm de espesor. En el presente estudio se observó que las dimensiones ancho y espesor del grano tuvieron un tamaño promedio (0.568 y 0.457cm respectivamente) similar al reportado por Figueroa *et al.* (2013), mientras que para la dimensión largo de grano, el promedio que más se acercó fue el de las muestras a granel (0.874cm), la diferencia observada en la variable largo del grano podría indicar que el maíz evaluado no satisface una de las dimensiones para considerarse como grano de alto valor agregado.

4.3 Determinación de la micobiota

En los experimentos realizados para determinar la micobiota endógena y exógena que componen la micobiota inicial total, se encontraron 26 cepas diferentes pertenecientes a 12 géneros, de los cuales *Alternaria*, *Bipolaris*, *Drechslera*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Eurotium* y *Penicillium* fueron determinados hasta especie, mientras que los géneros *Cladosporium*, *Chaetomium*, *Mucor*, *Paecilomyces* y *Rhizopus* únicamente a nivel de género. Las colonias cuantificadas fueron expresadas en porcentajes y para el reporte del total se calculó el promedio de la micobiota endógena y la exógena. Los hongos encontrados fueron agrupados mediante una clasificación ecológica de acuerdo con Christensen y Kauffman (1969), la cual nos brinda una perspectiva del manejo que tuvo el maíz palomero evaluado con respecto a su calidad sanitaria. Como se observa en el Cuadro 9, en la mayoría de las muestras la micobiota exógena tuvo mayores porcentajes de presencia que la micobiota endógena. Los hongos de almacén y los hongos de deterioro avanzado presentaron mayores porcentajes de incidencia que los hongos de campo para la mayoría de las muestras, con excepción de la muestra 'Envasado 1' que resultó ausente de micobiota endógena y para la micobiota exógena el mayor porcentaje registrado fue para los hongos de deterioro avanzado con el 1.31% de presencia. En la gráfica de la Figura 21 se muestra la micobiota total encontrada en el maíz palomero evaluado, las muestras del proceso a granel tuvieron en promedio la menor incidencia de hongos de almacén (3.73%) y de hongos de deterioro avanzado (1.82%) mientras que las muestras del proceso industrializado tuvieron la menor incidencia de hongos de campo

(0.35%), mientras que la muestra 'Envasado 4' presento el mayor porcentaje promedio de incidencia (6.59%) correspondiente a los hongos de almacén.

Cuadro 9. Micobiota presente en muestras de maíz palomero colectadas en 2012 en D.F. y Área metropolitana.

Muestras	M i c o b i o t a					
	Endógena*			Exógena*		
	Campo	Almacén	Deterioro	Campo	Almacén	Deterioro
Granel 1	0.21	0.38	0.12	3.33	7.20	2.98
Granel 2	0.21	0.00	0.12	0.31	6.52	7.26
Granel 3	0.31	0.08	0.48	0.10	6.74	4.17
Granel 4	1.88	0.38	0.48	0.52	7.42	1.31
Granel 5	0.42	0.30	0.36	0.10	8.26	0.95
Envasado 1	0.00	0.00	0.00	0.10	0.38	1.31
Envasado 2	1.77	0.45	0.12	1.15	6.89	12.38
Envasado 3	1.67	1.29	0.00	1.67	10.61	11.31
Envasado 4	0.42	1.82	1.67	0.10	11.36	3.21
Envasado 5	0.10	0.30	1.07	0.42	12.80	5.60
Industrial 1	0.10	0.08	0.00	1.15	10.38	3.10
Industrial 2	0.21	1.36	0.00	0.00	8.71	7.98
Industrial 3	0.21	1.29	0.95	1.15	7.42	4.17
Industrial 4	0.31	1.06	0.00	0.00	11.67	2.98
Industrial 5	0.00	3.26	0.48	0.42	8.94	3.33

(*Colonias expresadas en porcentajes promedio)

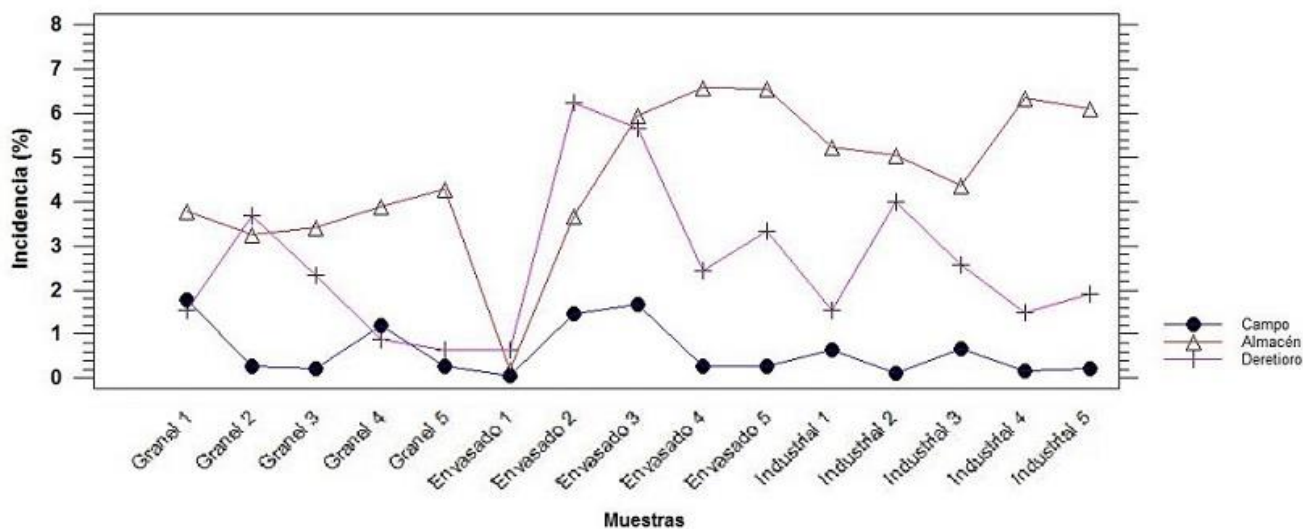


Figura 21. Micobiota inicial total presente en muestras de maíz palomero colectadas en 2012 en el D.F. y Área metropolitana.

A nivel mundial, incluido México, se han realizado pocos estudios sobre la micobiota presente en el maíz palomero, de los primeros reportes se encuentra el realizado por Pacin *et al.* (2002) donde fueron evaluados la presencia de hongos y micotoxinas en maíz palomero recién cosechado en Buenos Aires, Argentina reportándose la presencia de cuatro especies *Alternaria alternata*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum* y *Penicillium funiculosum*, en este estudio se reportó la incidencia de 3 de estas especies, con excepción de *Penicillium funiculosum*. Alborch *et al.* (2012) evaluaron muestras de maíz palomero de reciente cosecha y también muestras de maíz palomero comercializado en anaquel en España, encontrando la presencia de especies de los géneros *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* y *Mucor*, géneros también encontrados en la determinación de la micobiota total para las 15 muestras evaluadas en este trabajo.

En los estudios realizados en granos de reciente cosecha la calidad biológica del grano es afectada principalmente por hongos de campo de los géneros *Fusarium* y *Alternaria*, aunque esta evaluación se realizó directamente al producto ofertado al consumidor de forma comercial en sus diferentes presentaciones, se reportó incidencia de hongos de campo principalmente de los géneros *Alternaria*, *Fusarium* y *Cladosporium*, siendo *Fusarium verticillioides* el más frecuente en las muestras encontrado en casi todas las muestras, teniendo el porcentaje más alto de incidencia la muestra 'Envasado 3' (13.33 %). Los hongos de almacén fueron los encontrados con mayores porcentajes de incidencia como *Eurotium rubrum* (52.08% en la muestra 'Industrializado 4'), *Penicillium aurantiogriseum* (27.50% en la muestra Envasado 4') y *Aspergillus flavus* (26.25% en la muestra 'Envasado 2'). *Rizhopus* fue el hongo de deterioro avanzado encontrado con los mayores porcentajes de incidencia en las muestras evaluadas (22.92% en la muestra 'Envasado 3') seguido por *Chaetomium* (12.92% en la muestra 'Envasado 2'), lo cual nos indica que los procesos de almacenaje e industrialización del maíz palomero tienen deficiencias en el control de factores físicos que permiten que el grano sea invadido por hongos que deterioran su calidad.

Muchas de las especies de hongos aisladas e identificadas en las muestras de maíz palomero que fueron evaluadas en este estudio representan riesgos para la salud humana y animal, tales como aquellas productoras de micotoxinas, de entre las que podemos mencionar a *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, especies reportadas como productoras de alfatoxinas, (Sargeant *et al.*, 1961). El principal riesgo para la salud humana lo constituye la ingestión reiterada de pequeñas concentraciones de la micotoxina que se bioacumula y puede conducir al desarrollo de carcinomas en diversos órganos (Robledo *et al.*, 2002).

En este estudio se cuantificaron, aislaron e identificaron diversos hongos, 8 cepas de hongos de campo, 11 cepas de hongos de almacén y 7 cepas de hongos de deterioro avanzado, a continuación se presentan las descripciones de la macro y micromorfología que fueron utilizadas para su identificación así como la importancia que representan estos hongos para la calidad biológica del grano de maíz palomero. Las frecuencias relativas de los hongos encontrados por cada muestra se observan en el Cuadro 10.

Cuadro 10. Frecuencias relativas (%) de la presencia de hongos en granos de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana.

Micobiota	Muestras														
	Granel					Envasado					Industrializado				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<i>Alternaria alternata</i>	0.25	-	0.27	-	-	-	-	0.83	-	0.27	-	0.55	0.83	0.27	0.27
<i>Bipolaris spicifera</i>	0.55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cladosporium</i>	5.83	1.25	0.42	0.83	0.83	-	0.42	-	0.83	0.42	-	-	-	0.42	0.42
<i>Drechslera dermatoides</i>	-	-	-	-	-	-	-	0.27	-	-	-	0.83	-	-	-
<i>Fusarium graminearum</i>	-	-	-	1.67	-	-	-	-	-	-	1.67	-	2.50	-	-
<i>Fusarium proliferatum</i>	-	-	0.42	2.92	-	-	2.92	-	-	0.83	-	-	-	-	0.83
<i>Fusarium subglutinans</i>	0.42	-	-	-	-	0.42	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Fusarium verticillioides</i>	7.92	0.83	0.83	4.17	1.25	-	8.33	13.33	1.25	0.83	3.33	-	2.92	0.83	0.42
<i>Aspergillus candidus</i>	-	-	-	-	-	-	-	0.42	7.92	1.67	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus flavus</i>	2.08	6.25	0.42	3.33	1.25	-	26.25	6.67	2.50	4.17	-	0.42	1.25	-	0.83
<i>Aspergillus ochraceus</i>	-	0.42	2.92	-	-	0.42	-	0.42	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus parasiticus</i>	1.67	0.83	-	2.08	2.08	0.42	1.25	1.67	2.50	-	3.33	1.25	3.75	0.42	-
<i>Aspergillus versicolor</i>	2.50	2.08	-	1.67	5.42	-	0.42	0.83	0.42	0.83	0.42	6.67	2.50	-	-
<i>Eurotium chevalieri</i>	1.25	0.42	7.08	1.67	4.17	-	2.50	9.58	2.92	22.08	17.92	17.08	12.08	3.33	7.08
<i>Eurotium rubrum</i>	5.83	20.00	20.42	20.00	21.25	-	7.08	18.33	25.42	37.92	27.50	28.33	25.83	52.08	50.83
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	20.83	4.58	6.25	7.50	10.00	1.25	2.50	21.25	27.50	5.42	5.42	0.42	2.08	-	0.83
<i>Penicillium brevicompactum</i>	-	-	-	2.92	1.25	-	-	1.67	1.67	-	1.25	-	0.42	-	0.42
<i>Penicillium chrysogenum</i>	5.83	1.25	0.42	3.75	1.67	-	-	4.58	1.67	-	1.67	1.25	-	14.17	7.08
<i>Penicillium expansum</i>	1.67	-	-	-	-	-	0.42	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus awamori</i>	0.83	2.08	-	0.42	0.42	-	8.33	9.17	0.42	-	-	-	3.75	-	0.42
<i>Aspergillus clavatus</i>	-	-	-	-	0.42	-	-	-	-	0.42	0.83	-	4.58	-	0.83
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-	-	-	12.92	0.42	-	-	-	-	2.50	-	-
<i>Chaetomium</i>	0.42	0.42	1.67	0.42	1.25	-	-	7.08	10.83	9.17	2.08	2.08	1.25	5.00	1.25
<i>Mucor</i>	-	1.25	-	1.67	1.67	-	-	-	1.25	0.42	-	-	-	-	-
<i>Paecilomyces</i>	0.42	1.25	1.25	2.50	0.83	0.83	0.42	-	4.58	3.33	0.83	-	0.83	-	-
<i>Rhizopus</i>	9.17	20.83	13.33	1.25	-	3.75	22.08	22.92	-	10	7.08	25.83	5.00	5.42	10.83

(-) = no detectado

4.3.1 Hongos de campo

Se conoce poco del complejo de patógenos (*Alternaria spp.*, *Bipolaris spp.* y *Drechslera spp.*) causantes de manchas y tizones foliares. Según Ellis (1971, 1976) y Sivanesan (1987) las especies del complejo de géneros *Bipolaris* y *Drechslera* actúan como patógenos, invasores secundarios o saprobios en las plantas, son muy conocidos como parásitos importantes de gramíneas silvestres y cultivadas - su hábitat fundamental – sin embargo ocasionalmente también pueden afectar otros grupos. Las enfermedades más comunes que producen son manchas foliares, marchitamiento de hojas y plántulas, pudriciones de raíces y afectaciones de semillas y granos (Kwaśna, 1995). Sin embargo, en México hay incidencia y severidad alta de enfermedades ocasionadas por este complejo de hongos (Casa y Reis, 2000).

Alternaria alternata es una de las especies productora de micotoxinas en campo más importante y se ha identificado en cereales, girasol, olivo y otros frutos (Barkai-Golan, 2008). Kiecana y Cegielko (2007) y Kurowski y Wysocka (2009) identificaron *A. alternata* como la especie fungosa más frecuente en las semillas de avena recolectadas en campos de Polonia, esto indica que el patógeno puede diseminarse con la semillas infectadas. Respecto al maíz en México Gallardo *et al.* (2006) en un estudio de micobiota realizado en maíz recién cosechado en varias localidades del estado de Sonora encontraron que *Alternaria alternata* se presentó en mayor proporción en las muestras del Valle del Yaqui (26%) de la invasión total. Sin embargo, para el caso del maíz palomero evaluado en este estudio se reportó una carga fúngica muy pequeña (0.83%) de este hongo, al igual que de *Bipolaris spicifera* y *Drechslera dermatoides* (0.11% y 0.06% respectivamente), esta tendencia resultó similar con los porcentajes de incidencia encontrados en este estudio, aunque las cargas fúngicas para estas especies resultaron menores (0.24%, 0.04% y 0.07% respectivamente)

El género *Cladosporium* es usualmente considerado como un contaminante ambiental, aunque en cereales la pudrición de la mazorca y del grano es causada

por el hongo *Cladosporium herbarum* que infecta los granos cerca de la base de la mazorca, especialmente los granos dañados. Los síntomas característicos son pústulas o rayas negras o verde negruzcas sobre granos esparcidos en la mazorca, aunque después de la cosecha y durante el almacenamiento la infección se puede difundir aún más, esta enfermedad no tiene importancia desde un punto de vista económico (Agrios, 1985). En este estudio se determinó solo a nivel de género las colonias aisladas de *Cladosporium* teniendo un porcentaje de carga fúngica para el total de muestras evaluadas de 0.78%.

4.3.1.1 Registro de las características morfológicas (*Alternaria alternata*, *Bipolaris spicifera*, *Cladosporium* y *Drechslera dermatioidea*)

Alternaria alternata

Cultivo a 0.5X, 8d: en PCA colonia de 6.2cm de diámetro color verde olivo con 5 anillos concéntricos de crecimiento y esporulación; en V-8 colonia de 3.65cm de diámetro color marrón oscuro con 3 anillos concéntricos. Conidios color marrón a café oscuro, en cadenas largas no ramificadas, ocasionalmente presentan ramas laterales cortas, no son dominantes en la mayor parte de la colonia (Figura 22), de tipo polimórficos desde cortos hasta alargados, variables en su forma desde ovalados hasta cilíndricos de longitud de 16-32 mm con septos transversales de 1-6 y longitudinales de 0-1, algunos presentan pico de longitudes variables de 8-26 mm (Figura 23).

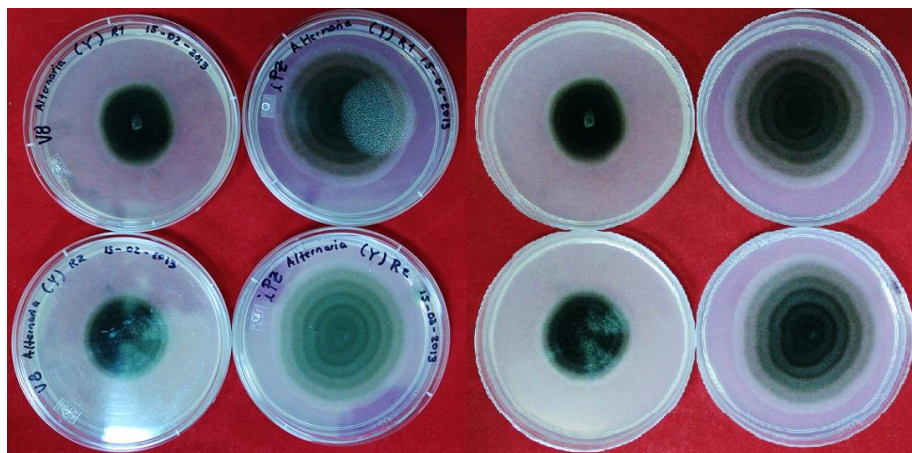


Figura 22. Colonias de *Alternaria alternata* en PCA y V8 (8 días).

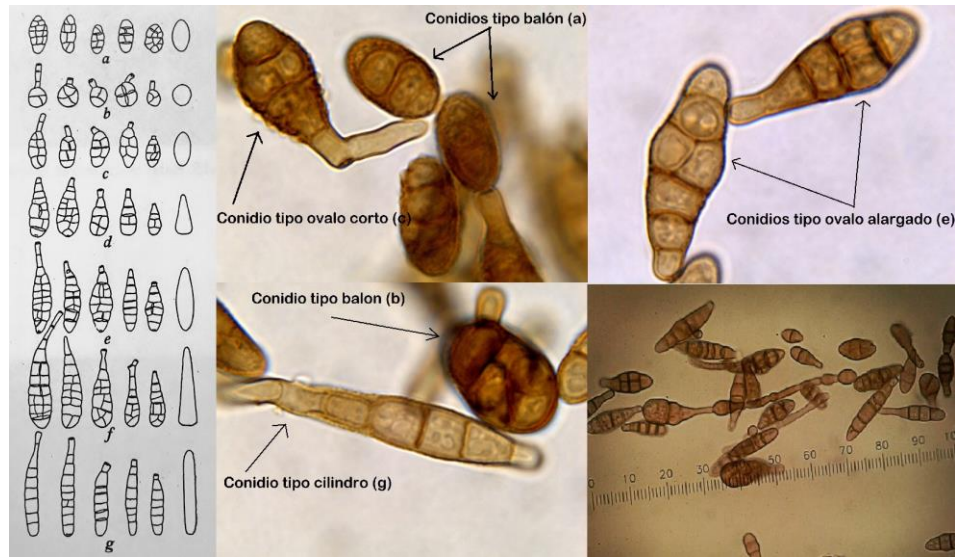


Figura 23. Tipos de conidios de *Alternaria alternata* (izquierda: esquema tomado de Neergaard, 1945; derecha: preparaciones en lactofenol, 100X-PCA; abajo: cadenas de conidios, lactofenol 40X-PCA).

Bipolaris spicifera

Cultivo a 0.5X, 8d: en PDA colonias color café oscuro de aspecto algodonoso, bajo el microscopio estereoscópico se aprecian abundantes conidióforos color café que dan apariencia de cepillo para botellas. El conidióforo presenta cicatrices en forma de zigzag irregular. Los conidios son cortos de color café en su mayoría de tres septos, tienen forma ovalada con extremos redondeados y las células terminales tienen una región subhialina hacia los extremos, de 22.5-37.2µm de largo y 7.9-12.6 µm de ancho. Micelio con presencia de clamidosporas (Figura 24).

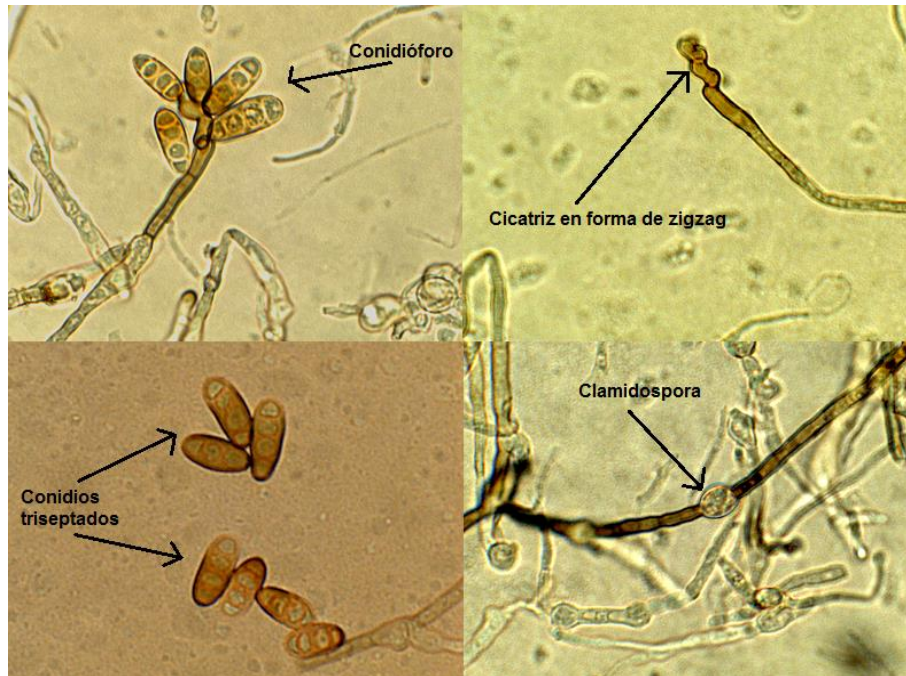


Figura 24. *Bipolaris spicifera* (características microscópicas: 40X-lactofenol).

Cladosporium sp.

Cultivo a 0.5X, 8d: en PDA colonia de crecimiento rápido de color verde oliva y micelio blanco, de aspecto aterciopelado, reverso negro con pigmento difuso color ámbar. Conidióforos agrupados, ramificados cerca del ápice. Conidios ovoides de 2.2-3.8 μ m de largo y 2-2.3 μ m de ancho en cadenas simples (Figura 25).



Figura 25. *Cladosporium sp.* (izquierda: colonia sobre roseta de maíz palomero, centro: 0.5X-PDA, derecha: 40X-lactofenol).

Drechslera dermatoides

Cultivo a 0.5X, 8d: en PDA colonia de crecimiento lento de negra con estructuras doradas, de aspecto algodonoso. Conidióforos cortos, delgados de color ámbar. Conidios color ámbar con una célula basal de color amarillento más claro, con forma de garrote ensanchados en la punta y ahusados hacia la base donde terminan con una cicatriz ancha y más oscura, de 3 a 5 septos de 16-32µm de largo y 8.5-13µm de ancho (Figura 26).

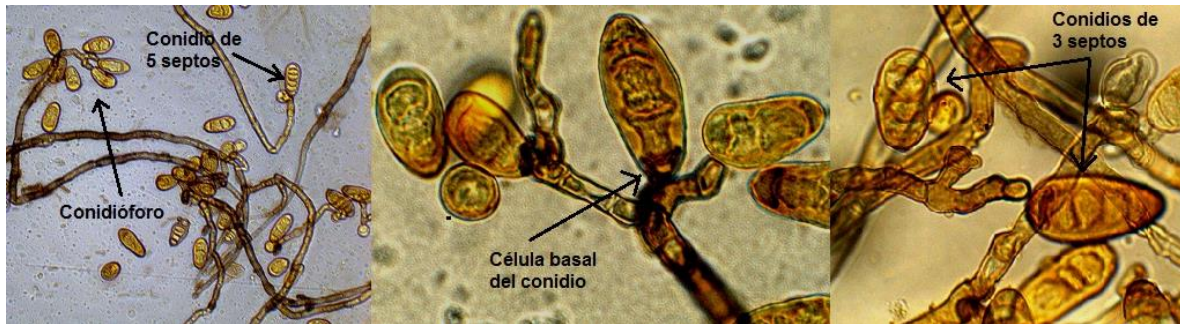


Figura 26. *Drechslera dermatoides*(izquierda: 10X-lactofenol, centro: 40X-lactofenol, derecha: 40X-lactofenol).

Con respecto al género *Fusarium* las especies determinadas en este estudio fueron *F. graminearum*, *proliferatum*, *subglutinans* y *verticillioides*, con una carga fúngica promedio para todas las muestras evaluadas de 0.39, 0.53, 0.06 y 3.08% respectivamente. El género *Fusarium* se encuentra entre los hongos toxigénicos de mayor importancia, dentro de este género las especies de mayor interés en el grano de maíz (*Zea mays L.*) son *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg, *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg y *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas, pertenecientes a la sección *Liseola* (Riley *et al.*, 1993). *F. verticillioides* es endémico del maíz causando en la planta putrefacción de tallo, raíz y mazorca, es más común en regiones con climas secos y cálidos, mientras que *Fusarium graminearum* es más común en regiones con climas fríos (García *et al.*, 2007).

Las fumonisinas son metabolitos secundarios caracterizados por tener dos cadenas laterales de ácido tricarbálico esterificadas a una cadena aminopentol con uno o más grupos hidroxilos (Gelderblom *et al.*, 1988). La producción de fumonisinas en maíz está influenciada por distintos factores como la variedad de semilla usada para el cultivo, las diferentes formulaciones de fertilizantes, así como por las variaciones en las condiciones de almacenamiento y características ambientales como la humedad, la temperatura, los períodos de sequía, la cantidad de precipitación durante la precosecha y la cosecha (Bacon y Nelson, 1994; Marin *et al.*, 2004).

Las fumonisinas fueron determinadas por primera vez en Sudáfrica en 1988 y de acuerdo con la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC por sus siglas en inglés), desde 1993 se encuentran catalogadas como posibles carcinógenos humanos (Grupo 2B). Existen 15 tipos de fumonisinas, agrupadas en cuatro categorías; las más conocidas son la FB₁, FB₂ y FB₃, de las cuales la FB₁ es la más tóxica y representa aproximadamente 70% en el contenido de fumonisinas totales (Bezuidenhout *et al.*, 1988; Rheeder *et al.*, 2002). La presencia de fumonisinas como contaminante natural en maíz en el estado de Nuevo León fueron determinadas por Desjardins *et al.* (1994), y en Sonora por Cortez-Rocha *et al.* (2003). Asimismo, la capacidad productora de fumonisina B₁ por cepas de *Fusarium verticillioides* fue recientemente reportada por Gallardo *et al.* (2006).

Los tricotecenos son otra clase de micotoxinas producidas principalmente por el género *Fusarium*, aunque también se sabe que son producidos por los géneros *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Stachybotrys*, *Verticimonosporium*, *Cephalosporium*, *Myrothecium*, y *Cylindrocarpon*. Son conocidos poco más de 150 tricotecenos, de los cuales, sólo unos pocos son importantes debido a su presencia en plantas cultivadas para uso alimenticio de seres humanos y animales (Grove 1988, 2000), estas micotoxinas más destacadas son: deoxinivalenol (DON), también conocida como vomitoxina; nivalenol (NIV); diacetoxiscirpenol (DAS) y toxina T-2 (T-2). Los principales tricotecenos tipo A son: T-2, HT-2, T2-triol, DAS, NEO,

monoacetoxiscirpenol y verrucarol; los tipo B son: DON, NIV, 3-ADON, 15-ADON, FusX; tipo C son: crotocina y bacarina; y de tipo D son roridina A, satratoxina H y verrucarina A. *Fusarium graminearum* está ampliamente distribuido en granos de cereal y es el mayor productor de tricotecenos tipo B (Birzele *et al.*, 2000). Se ha reportado la presencia de DON en alimentos como harina de maíz y cereales de desayuno a base de avena (Abouzied *et al.*, 1991; Canady *et al.*, 2001), en alimentos infantiles a base de cereales obtenidos en diversos supermercados canadienses (Lombaert *et al.*, 2003) y también ha sido detectado en bajas concentraciones en cerveza (Scott, 1996; Shim *et al.*, 1997; Torres *et al.*, 1998; Moltó *et al.*, 2000).

La zearalenona (ZEA) es una importante micotoxina producida por hongos del género *Fusarium* como *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. cerealis*, *F. equiseti* y *F. semitectum* (Jiménez *et al.*, 1996). Esta toxina aparece principalmente en maíz y en pequeños granos como la cebada, trigo, sorgo, arroz y mijo, pero también se ha encontrado en soja (Gareis *et al.*, 2003). En maíz, la toxina es muy común, estando presente principalmente en bajas concentraciones, en Norteamérica, Japón y Europa. Sin embargo, puede encontrarse en concentraciones altas en países en desarrollo donde se cultiva maíz en climas más templados (Llorens *et al.*, 2004). *F. graminearum* produce ZEA junto con DON y se ha señalado la posible relación simultánea de ambas sustancias con brotes de micotoxicosis agudas en personas. La exposición a ZEA a través del consumo de maíz contaminado con la toxina ha ocasionado hiperestrogenismo en animales, especialmente cerdos, caracterizado por vulvovaginitis, mastitis e infertilidad (Udagawa, 1988).

4.3.1.2 Registro de las características morfológicas de las especies de *Fusarium*

Fusarium graminearum

Cultivo a 0.5X, 8d: en IPDA colonia de 51.33mm rosa pálido con amarilla, micelio amarillo de aspecto algodonoso, reverso de la colonia color guinda. Macroconidios

típicos en forma curva de 5 septos, con la célula apical en forma de gancho y la célula basal en forma de muesca. Microconidios ausentes. En Clavel colonia de 55.5mm color rosa pálido de aspecto hialino, reverso de la colonia color guinda. Macroconidios típicos en forma curva de 5 septos de 42-52 μ m de largo, con las mismas formas de célula apical y basal que los observados en IPDA. Microconidios ausentes (Figura 27).

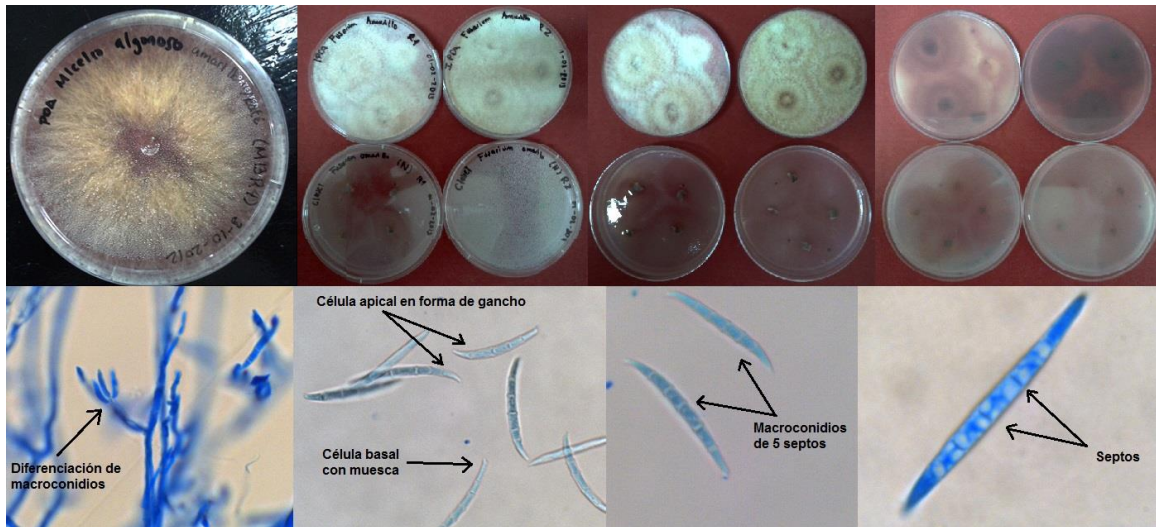


Figura 27. *Fusarium graminearum* (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 40X-alcohol polivinílico, centro: 40X-alcohol polivinílico, derecha: 100X-alcohol polivinílico).

Fusarium proliferatum

Cultivo a 0.5X, 8d: en IPDA colonia de 47.66mm rosa pálido, micelio salmón de aspecto algodonoso, reverso de la colonia color violeta. Microconidios de tipo ovalado y de tipo ovalado con dos celdas en monofiálides y también en polifiálides. Macroconidios esbeltos, rectos casi como agujas de 5 septos, con la célula apical en forma estrecha y la célula basal en forma de muesca de 48 μ m de longitud. En Clavel colonia de 52.83mm color violeta de aspecto hialino, micelio rosa pálido, con pigmentación del medio color guinda, reverso de la colonia color violeta. Microconidios de forma ovoide de 1-1.2 μ m de longitud y de tipo piriforme de 1.5 μ m de longitud formando cadenas cortas y falsas cabezas. Macroconidios esbeltos,

rectos casi como agujas de 5 septos de 54 μ m de largo, con las mismas formas de célula apical y basal que los observados en IPDA (Figura 28).

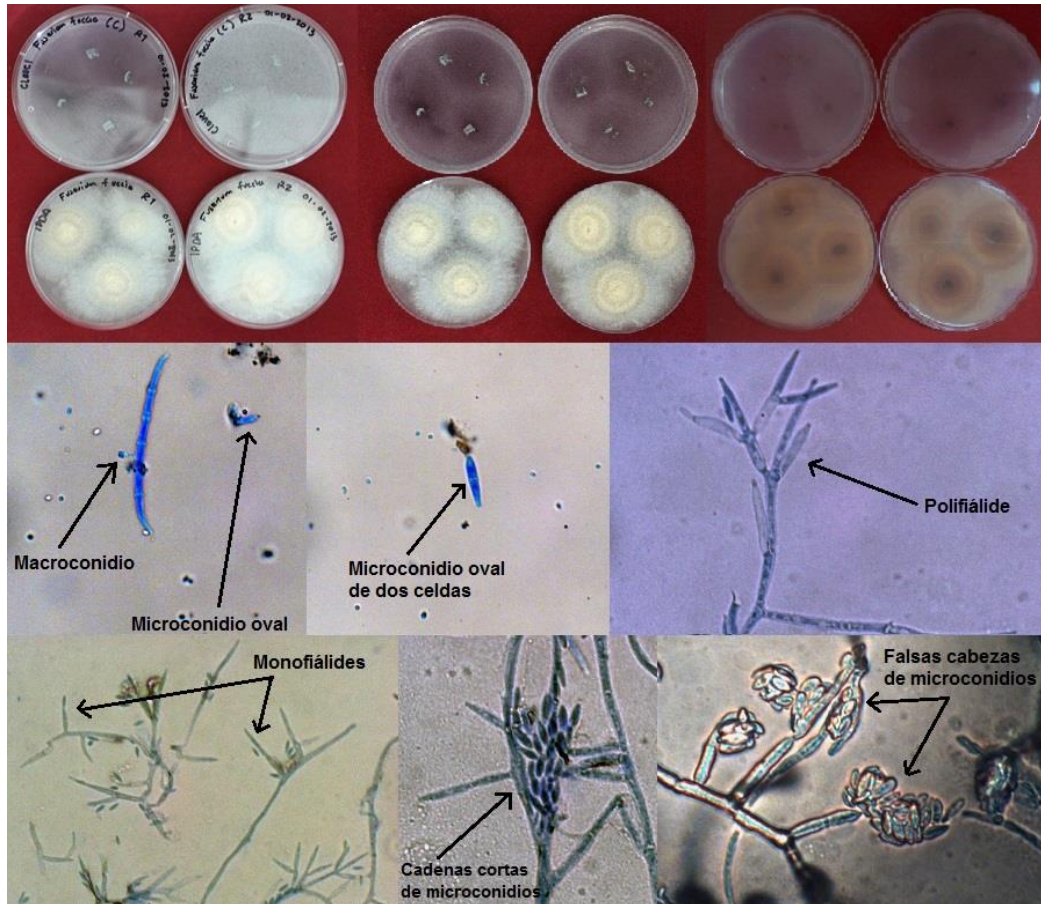


Figura 28. *Fusarium proliferatum* (arriba: características macroscópicas, centro: características microscópicas, 40X-alcohol polivinílico, abajo izquierda 20X-alcohol polivinílico, centro y derecha 40X-alcohol polivinílico).

Fusarium subglutinans

Cultivo a 0.5X, 8d: en IPDA colonia de 52mm color rosa oscuro, micelio rosa pálido de aspecto algodonoso, reverso color rosa oscuro. Microconidios de tipo ovalado y de tipo ovalado con dos celdas en polifialides. Macroconidios esbeltos, rectos casi como agujas de 3-4 septos, con la célula apical en forma apilada y la célula basal en forma de muesca de 40-44 μ m de longitud. En Clavel colonia de 57.3mm color violeta oscuro de aspecto algodonoso, micelio rosa pálido, reverso violeta oscuro. Microconidios de forma ovalada con dos septos de 0.72-1.12 μ m en

polifíalides, también forma falsas cabezas de microconidios. Macroconidios con las mismas características que los observados en IPDA (Figura 29).

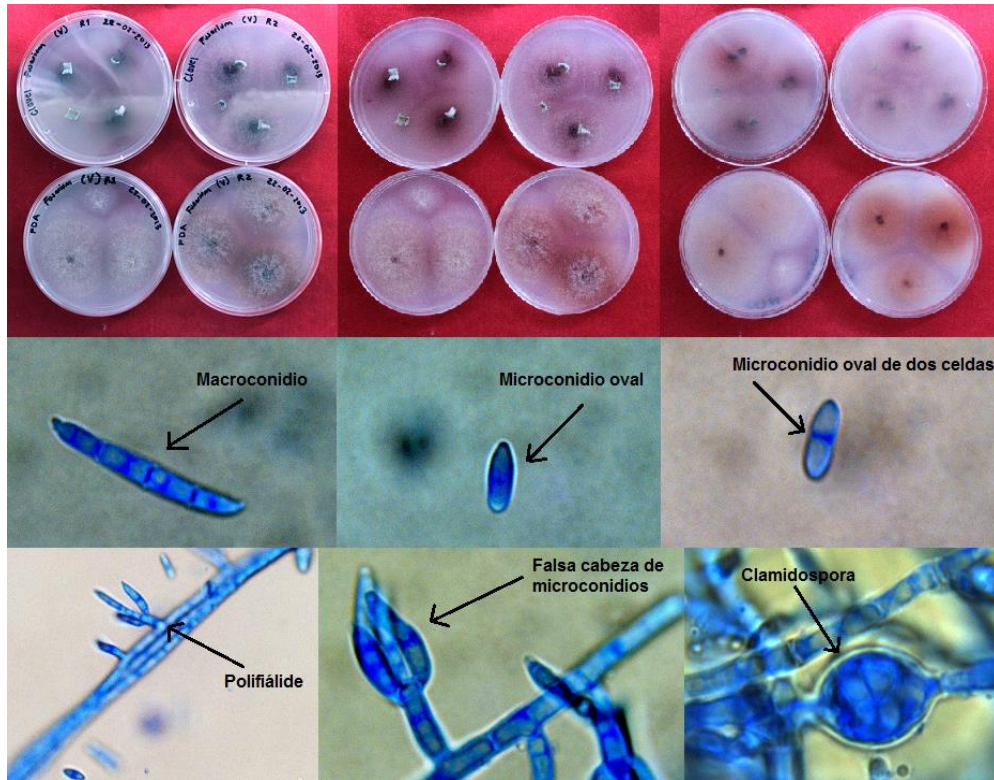


Figura 29. *Fusarium subglutinans* (arriba: características macroscópicas, centro: características microscópicas, 100X-alcohol polivinílico, abajo izquierda 40X-alcohol polivinílico, centro y derecha 100X-alcohol polivinílico).

Fusarium verticillioides

Cultivo a 0.5X, 8d: en IPDA colonia de 51.08mm color durazno al centro y rosa pálido en el borde, micelio rosa pálido de aspecto algodonoso, reverso de la colonia color salmón. Microconidios de tipo ovoide con la base tunicada sin septos de 0.3-0.8 μ m en monofiálides de 10-14 μ m formando cadenas largas. Macroconidios ausentes. En Clavel colonia de 51.49mm color rosa pálido de aspecto algodonoso, micelio rosa pálido, reverso de la colonia color durazno. Microconidios similares a los encontrados en IPDA. Macroconidios largos y delgados de 46-55 μ m, con 4-5 septos, con la célula apical en forma curvada y cónica en la punta y la célula basal en forma de muesca muy ligera (Figura 30).

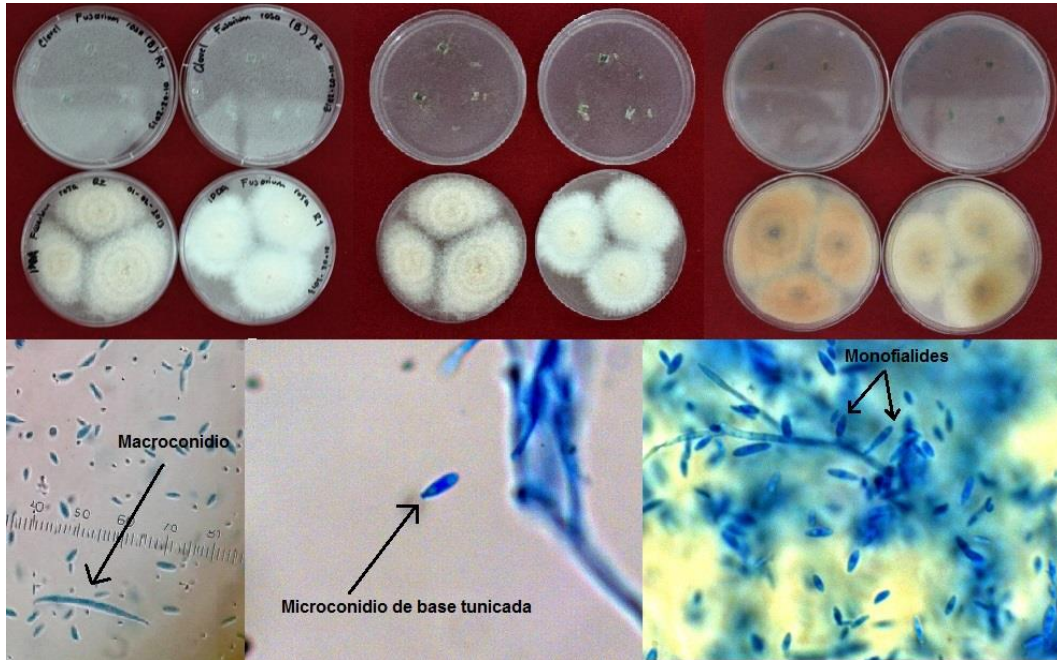


Figura 30. *Fusarium verticillioides* (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 10X-alcohol polivinílico, centro: 40X-alcohol polivinílico, derecha 40X-alcohol polivinílico).

4.3.2 Hongos de almacén

Como se observa en el Cuadro 10, los hongos de almacén fueron los encontrados con mayores porcentajes de incidencia así como también con el mayor número de cepas aisladas (11 en total). Las especies del género *Eurotium* fueron las que presentaron mayor carga fúngica, *Eurotium chevalieri* con un 7.28% y *Eurotium rubrum* con un 24.06%. Respecto del género *Aspergillus* fueron determinadas las especies *A. candidus*, *flavus*, *ochraceus*, *parasiticus* y *versicolor*, con una carga fúngica promedio para todas las muestras de 0.67, 3.69, 0.28, 1.42 y 1.58% respectivamente. Mientras que las especies que fueron determinadas del género *Penicillium* son *P. aurantiogriseum*, *brevicompactum*, *chrysogenum* y *expansum*, con una carga fúngica promedio de 7.72, 0.64, 2.89 y 0.14% respectivamente.

Se ha reportado que durante el almacenamiento algunos hongos de los géneros *Aspergillus*, *Eurotium* y *Penicillium* atacan y dañan el grano cuando la humedad

está entre 14 y 18% (Smith *et al.*, 1994). Estos hongos son un problema cuando el maíz se cosecha mecánicamente y está húmedo y no es correctamente secado antes de transportarlo o almacenarlo. En las regiones tropicales la mayor parte del maíz es cosechado en la mazorca y se seca antes de desgranar; la humedad del grano es en general baja, menor de 14%; en esas condiciones los hongos de los granos almacenados no son un problema. Se ha encontrado que *Aspergillus flavus* puede invadir la planta de maíz cuando la humedad relativa es mayor de 17%, que su presencia afecta el desarrollo normal de los granos, y además es la principal especie productora de aflatoxina B₁, (Trigo-Stockli y Herrman, 2000).

Las aflatoxinas son compuestos del grupo de metabolitos de los bisifuranocumarinas, producidos principalmente por las especies *Aspergillus flavus*, productora de las aflatoxinas B₁ y B₂ y *Aspergillus parasiticus*, capaz de biosintetizar aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂. Según Abarca *et al.* (1997) también se ha detectado la producción de aflatoxina B₁ en especies pertenecientes a cuatro secciones distintas a la sección Flavi: *Aspergillus* (*Eurotium amstelodami*, *Eurotium chevalieri*, *Eurotium rubrum*), *Fumigati* (*Aspergillus fumigatus*), *Terrei* (*Aspergillus terreus*) y *Candidi* (*Aspergillus candidus*). Estas toxinas producen cuatro distintos efectos: alteración hepática aguda, cirrosis hepática, inducción de tumores y efectos teratogénicos. El metabolito principal de este grupo de micotoxinas, la aflatoxina B₁, es el carcinógeno natural más potente que se conoce en la actualidad (Denli y Pérez, 2006). Los niveles máximos permitidos para aflatoxinas totales son: 20 ng/g en alimentos concentrados diversos, 10 ng/g en alimentos concentrados para pollos de engorde, 20 ng/g en el consumo humano y 0,5 ng/g en leche (Peráica *et al.*, 1999).

Otros metabolitos secundarios producidos por el género *Aspergillus* son las ocratoxinas, que son micotoxinas que afectan el sistema nervioso (neurotóxicas) y pueden causar cáncer de riñón (nefrocancerígenas). Desde su descubrimiento en 1965 la producción de esta micotoxina se asocia en el género *Aspergillus* a siete especies de la sección Circumdati: *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus alliaceus*,

Aspergillus melleus, *Aspergillus ostianus*, *Aspergillus petrakii*, *Aspergillus sclerotiorum* y *Aspergillus sulphureus*. La mayoría de estos hongos producen principalmente ocratoxina A (OA) y raras veces ocratoxina B (OB). En el género *Penicillium* se ha descrito la producción de OA en *Penicillium chrysogenum* (Mills *et al.*, 1989), *Penicillium aurantiogriseum* (Mantle *et al.*, 1993), *Penicillium brevicompactum* (Kozakiewicz *et al.*, 1993) y *Penicillium expansum* (Krivobok *et al.*, 1995). Las ocratoxinas, son moléculas moderadamente estables y por tanto suelen resistir la mayoría de los procesos de elaboración de los alimentos, como el hervido, el tostado, el horneado, el freído y la fermentación. Se ha estimado que la ingesta diaria de este tipo de micotoxinas en humanos se encuentra entre 0.7 y 4.7 nanogramos por kilogramo de peso corporal. De ella, cerca del 50 por ciento es atribuida al consumo de cereales y sus productos derivados (Battaglia *et al.*, 1996).

4.3.2.1 Registro de las características morfológicas de los hongos de almacén

Aspergillus candidus

Cultivo a 0.5X, 8d: en MEA colonia de 18.3mm color blanco y micelio blanco, reverso de la colonia color beige claro. En CYA25 colonia de 27.8mm blanca y micelio blanco con exudado hialino, reverso beige claro y pigmentos en el medio color beige claro. En CYA37 colonia de 24.6 color crema con conidios globosos hialinos, micelio color crema y reverso de la colonia color ocre centro y beige en el margen. En CY20S colonia de 32.3mm color blanca y micelio blanco, reverso beige al centro y amarillo en el margen. En CZ colonia de 19mm color café al centro y margen blanco, con exudados hialinos y reverso de la colonia color amarillo, con esclerocios color café (Figura 31). Conidióforo de 220-380 μ m de largo y 8 μ m de ancho con superficie lisa, vesícula piriforme de 18 μ m de diámetro, biseriada con superficie lisa de 44 μ m de diámetro.

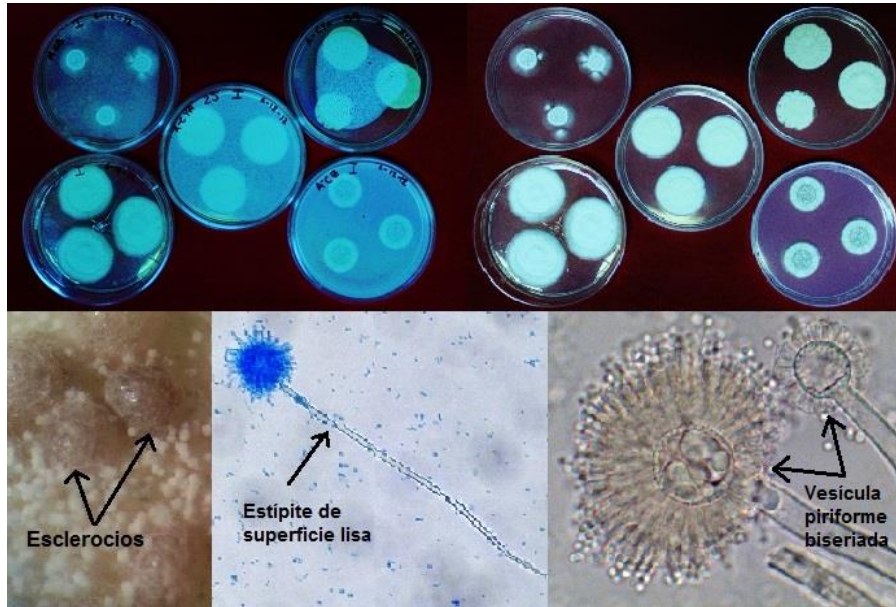


Figura 31. *Aspergillus candidus* (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 2X-CZ, centro: 10X-alcohol polivinílico, derecha: 20X-lactofenol).

Aspergillus flavus

Cultivo a 0.5X, 8d: en MEA colonia de 47.3mm color verde limón, micelio blanco, sin exudados, reverso de la colonia color verde opaco, con pocos esclerocios color café oscuro. En CYA25 colonia de 57.3mm color verde y beige, micelio blanco con exudados color ámbar y café oscuro, reverso beige claro, esclerocios café oscuros. En CYA37 colonia de 56mm color café con conidios en forma espatulada abierta color verde, micelio color blanco con exudados color ámbar y café oscuro, reverso café claro, pocos conidios y muchos esclerocios color café oscuro. En CY20S colonia de 63mm color verde limón y blanco al centro, micelio blanco sin exudados, reverso de la colonia color amarillo al centro y beige claro en el borde, esclerocios color café oscuro. En CZ colonia de 49mm color verde con un halo café con exudados color café oscuro, micelio blanco, reverso de la colonia color ocre y esclerocios color café oscuro. Conidióforo de 63-81 μ m de largo y 10-12 μ m de ancho de superficie lisa, vesícula globosa de 30 μ m de diámetro, biseriada en

su mayoría, vesícula uniseriada poco frecuente, todos con superficie lisa de $48\mu\text{m}$ de diámetro (Figura 32).



Figura 32. *Aspergillus flavus* (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 2X-PDA, centro: 2X-CZ, derecha: 20X-alcohol polivinílico).

Aspergillus ochraceus

Cultivo a 0.5X, 8d: en MEA colonia de 47.3mm color naranja opaco, micelio blanco, sin exudados, reverso color naranja opaco. En CYA25 colonia de 52.3mm naranja opaco con exudados color ocre, micelio beige, reverso café oscuro. En CYA37 sin crecimiento. En CY20S colonia de 61mm color naranja opaco, micelio beige sin exudados, reverso café muy oscuro. En CZ colonia de 40.3mm color naranja opaco con exudados abundantes color ocre, micelio beige, reverso de la colona color café muy oscuro y beige en el borde. Conidióforo de $591\text{-}729\mu\text{m}$ de largo y $10\mu\text{m}$ de ancho de superficie rugosa, vesícula de forma globosa de $32\mu\text{m}$ de diámetro, biseriada con superficie rugosa de $60\mu\text{m}$ de diámetro (Figura 33).

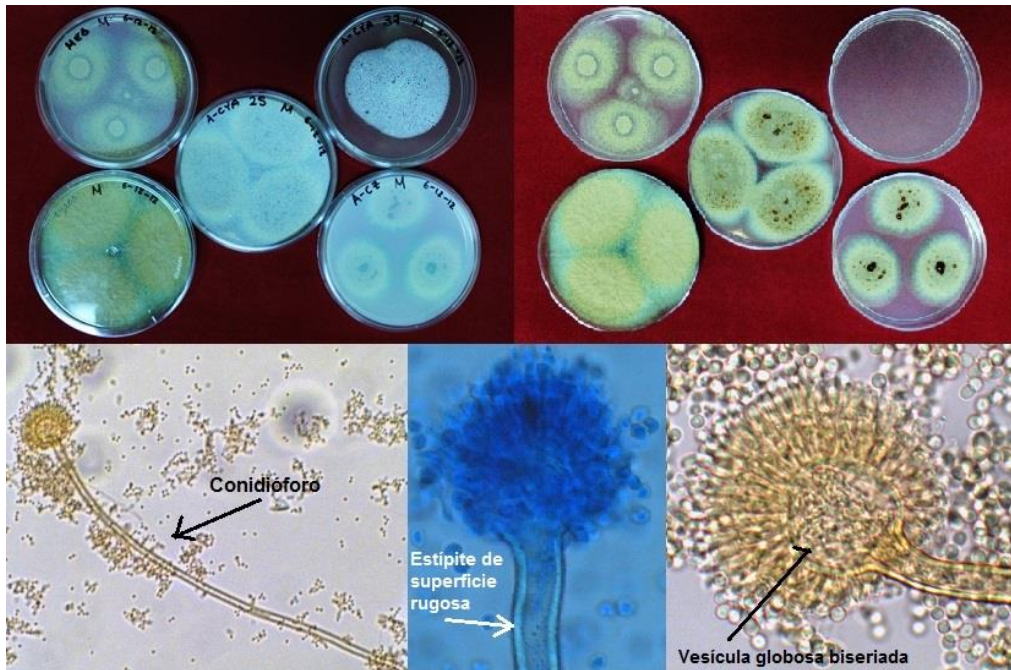


Figura 33. *Aspergillus ochraceus* (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 10X-lactofenol, centro: 40X-alcohol polivinílico, derecha: 40X-lactofenol).

Aspergillus parasiticus

Cultivo a 0.5X, 8d: en MEA colonia de 37.3mm color verde, conidios piriformes color verde, micelio blanco sin exudados, reverso verde opaco. En CYA25 colonia de 63mm verde con el centro blanco y exudados hialinos, micelio blanco, reverso de la colonia color crema con un círculo concéntrico café oscuro, esclerocios café oscuros. En CYA37 colonia de 46mm verde, micelio blanco, exudados color ámbar, esclerocios café oscuro. En CY20S colonia de 65mm color verde, micelio blanco sin exudados, reverso color beige. En CZ colonia de 55.3mm color verde con exudados hialinos, micelio blanco, reverso beige. Conidióforo de 320-380 μ m de largo y 8 μ m de ancho de superficie lisa, vesícula de forma esferoidal de 24 μ m de diámetro, uniseriada de superficie lisa de 48.6 μ m de diámetro (Figura 34).

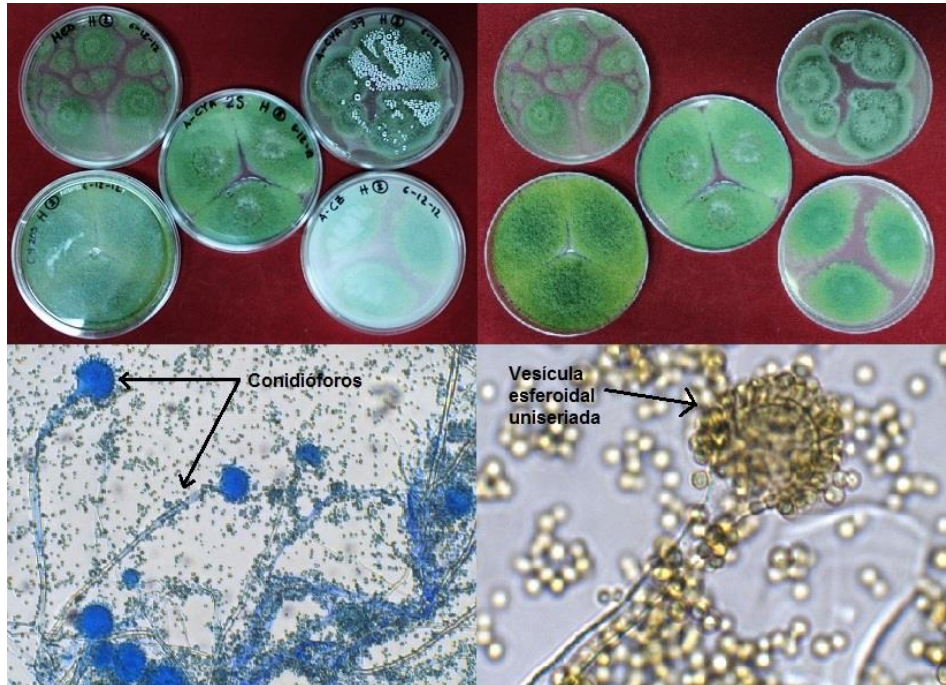


Figura 34. *Aspergillus parasiticus* (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 10X-alcohol polivinílico, derecha: 40X-lactofenol).

Aspergillus versicolor

Cultivo a 0.5X, 8d: en MEA colonia de 16mm color verde azulado con el margen color blanco, micelio blanco, sin exudados, reverso color beige, con pigmentos solubles color beige. En CYA25 colonia de 21.3mm verde azulado con el margen color blanco con exudados hialinos, micelio blanco, reverso de la colonia color café oscuro, pigmentos solubles color café oscuro. En CYA37 sin crecimiento. En CY20S colonia de 25.3mm color verde azulado, micelio blanco sin exudados, reverso color café rojizo, pigmentos solubles café rojizo. En CZ colonia de 21mm color verde azulado, micelio blanco sin exudados, reverso color café, pigmentos solubles color café rojizo. Conidióforo de 120 μ m de largo y 4 μ m de ancho de superficie lisa, vesícula de forma piriforme de 9-11 μ m de diámetro, biseriada con superficie rugosa de 36 μ m de diámetro (Figura 35).

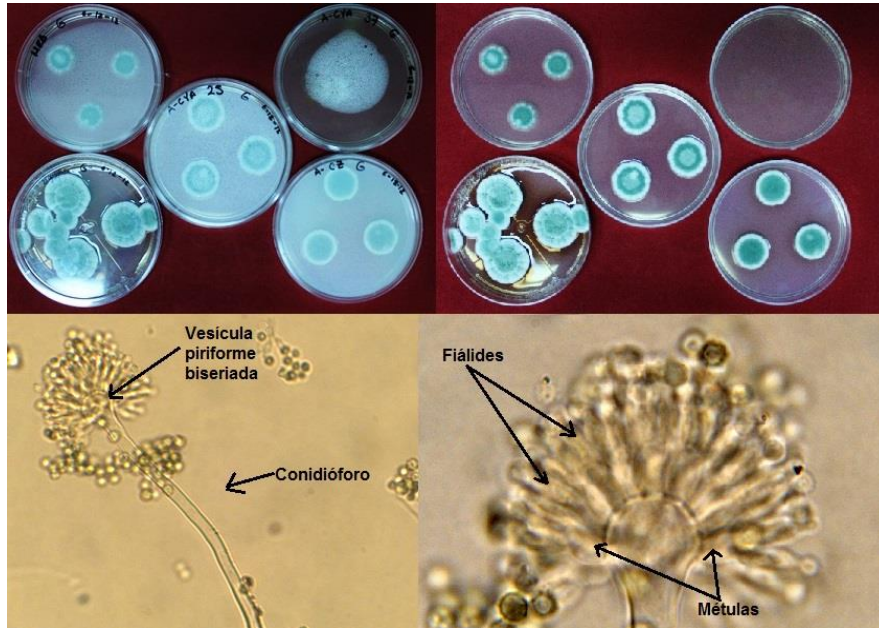


Figura 35. *Aspergillus versicolor* (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 40X-lactofenol, derecha: 100 X-lactofenol).

Eurotium chevalieri

Cultivo a 0.5X, 8d: en MEA colonia de 20.3mm verde con el margen color amarillo, micelio amarillo, reverso color amarillo, cleistotecios amarillos. En CYA25 colonia de 21.6mm amarilla con el margen color verde, micelio amarillo, reverso color verde olivo, cleistotecios amarillos. En CYA37 colonia de 10mm color verde opaco con el borde amarillo, micelio blanco, reverso color crema. En CY20S colonia de 47.3mm color verde opaco con el borde amarillo, micelio amarillo sin exudados, reverso color amarillo, cleistotecios amarillos. En CZ colonia de 19mm color amarilla, micelio amarillo sin exudados, reverso de la colonia color amarillo, cleistotecios amarillos. Conidióforo de 144-168 μ m de largo y 8-10 μ m de ancho de superficie lisa, vesícula de forma globosa de 18-22 μ m de diámetro, uniseriada con superficie lisa de 30-34 μ m de diámetro. Cleistotecios de forma esférica color amarillo de 820 μ m. Ascosporas de 7 días de maduración de textura rugosa de 6 μ m de largo y 4 μ m de ancho con surco central de 1 μ m de ancho y 2 crestas terminales. (Figura 36).

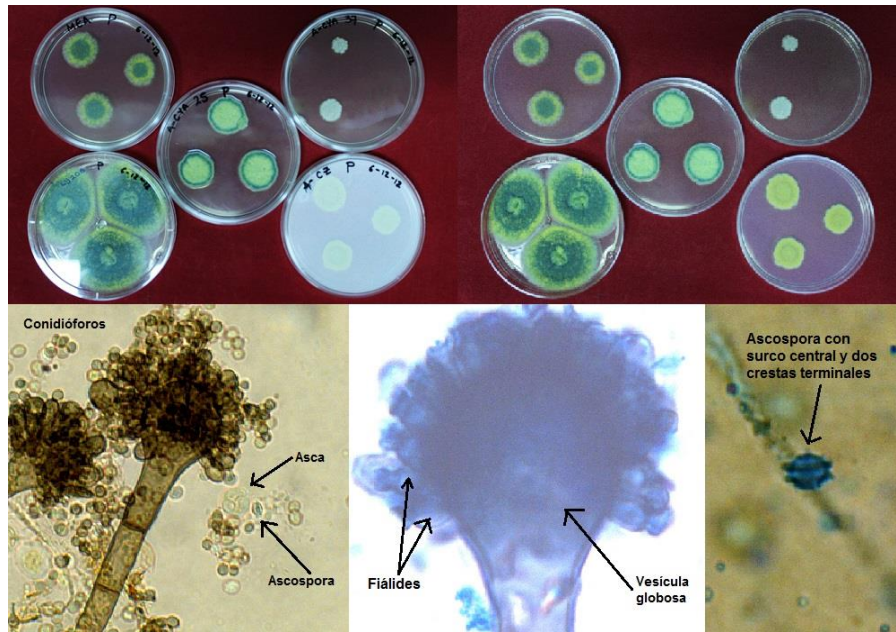


Figura 36. *Eurotium chevalieri* (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 40X-alcohol polivinílico, centro: 100X-alcohol polivinílico, derecha: 100X-alcohol polivinílico).

Eurotium rubrum

Cultivo a 0.5X, 8d: en MEA colonia de 20.3mm verde con el borde amarillo, micelio amarillo, reverso de la colonia color amarillo, cleistotecios amarillos. En CYA25 colonia de 21.6mm amarilla con el borde verde, micelio amarillo, reverso color verde olivo, cleistotecios amarillos. En CYA37 colonia de 10mm color verde opaco con el borde amarillo, micelio blanco, reverso color crema. En CY20S colonia de 47.3mm color verde opaco con el borde amarillo, micelio amarillo sin exudados, reverso color amarillo, cleistotecios amarillos. En CZ colonia de 19mm color amarilla, micelio amarillo sin exudados, reverso de la colonia color amarillo, cleistotecios amarillos. Conidióforo de 144-168 μ m de largo y 8-10 μ m de ancho de superficie lisa, vesícula de forma globosa de 18-22 μ m de diámetro, uniseriada con superficie lisa de 30-34 μ m de diámetro. Cleistotecios de forma esférica color amarillo de 820 μ m. Ascosporas de 7 días de maduración de textura lisa de 6.5 μ m de largo y 5 μ m de ancho con surco central de 0.7 μ m de ancho y 2 crestas terminales. (Figura 37).

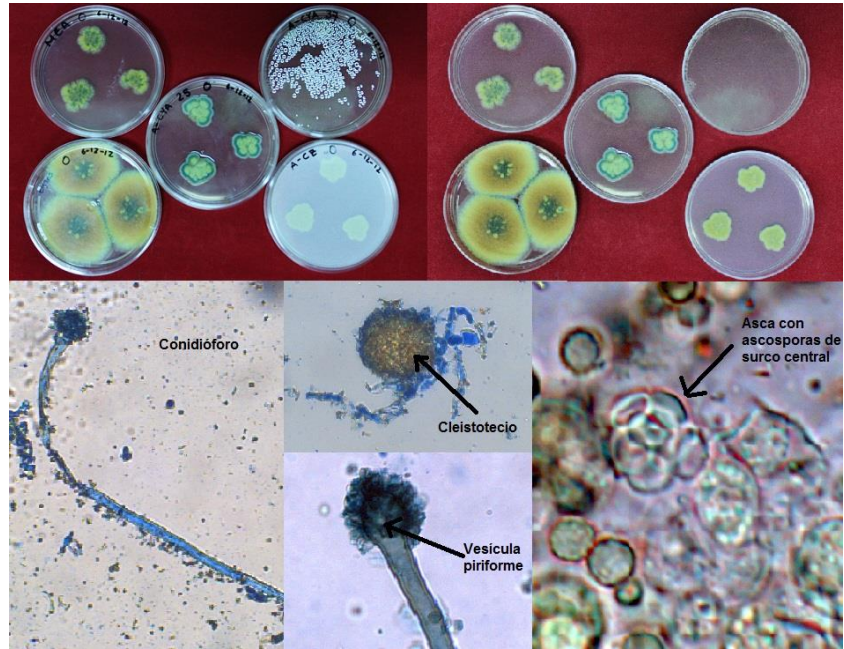


Figura 37. *Eurotium rubrum* (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 10X-alcohol polivinílico, centro, arriba: 20X-a. polivinílico, centro, abajo: 40X-a. polivinílico, derecha: 100X-lactofenol fuccia).

Penicillium aurantiogriseum

Cultivo a 0.5X, 8d: en CYA25 colonia de 25.75mm de diámetro, color blanca al centro y beige con verde en el margen, de crecimiento bajo y esporulación densa, de tipo convoluto al centro y sulcado a la orilla, de aspecto fasciculado, con exudados hialinos, pigmentos solubles presentes color amarillo, reverso de la colonia color ocre. En MEA colonia de 26mm de diámetro, color verde opaco, de crecimiento bajo y esporulación media, de tipo plana y aspecto velutinoso, sin exudados, con pigmentos solubles presentes color amarillo, reverso color ocre. En G25N colonia de 24mm de diámetro, color ocre y verde en el margen, de tipo convoluto al centro y borde plano, de aspecto flocoso, sin exudado, pigmentos solubles presentes color amarillo, reverso color ocre y verde olivo en el margen. En CYA5 colonia de 6.5mm, color blanco, micelio amarillo y reverso naranja opaco. En CYA37 colonia de 5mm de diámetro, hialina, de aspecto gelatinoso, micelio blanco muy escaso, sin pigmentos, reverso de la colonia transparente.

CZ colonia de 29.75mm de diámetro, color beige y el centro verde olivo, de crecimiento bajo y esporulación media, de tipo plana con el centro funiculado, de aspecto velutinoso, sin exudados, sin pigmentos solubles, reverso color beige. En YES colonia de 28.87mm de diámetro, color blanca, de crecimiento bajo, esporulación densa, de tipo convoluto con el margen sulcado, de aspecto velutinoso, sin exudados, pigmentos solubles presentes color amarillo, reverso de la colonia color naranja. Conidióforos de 220 μ m de longitud con paredes rugosas, de tipo terverticilados y quaterverticilados, de 2 ramas, divergentes, rugosas, de 20 μ m, con 4 métulas de 12 μ m de forma cilíndrica, cada métula con 3-4 fiálides cilíndricas de 15 μ m, conidios esféricos, lisos, de 2 μ m (Figura 38).

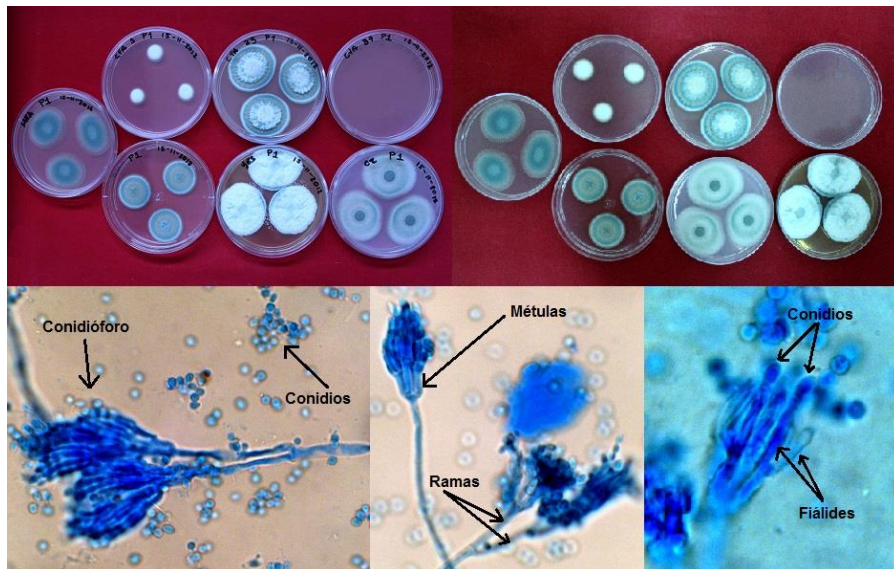


Figura 38. *Penicillium aurantiogriseum* (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda y centro: 40X-alcohol polivinílico, derecha 100X-alcohol polivinílico).

Penicillium brevicompactum

Cultivo a 0.5X, 8d: en CYA25 colonia de 21mm de diámetro, color verde olivo con el centro más claro, de crecimiento bajo y esporulación media, de tipo plano, de aspecto funiculoso al centro y velutinoso en el margen, con exudados color amarillo, sin pigmentos solubles, reverso naranja. En MEA colonia de 20mm de diámetro, color verde opaco con el margen blanco, de crecimiento bajo y

esporulación media, de tipo plana, de aspecto flocoso en el centro y velutinoso en el borde, sin exudados, sin pigmentos solubles, reverso de la colonia color verde olivo con un círculo concéntrico amarillo. En G25N colonia de 18mm de diámetro, color verde oscuro y blanco al margen, de tipo convoluto al centro y plano en el borde, de aspecto velutinoso, con exudados color verde oscuro, sin pigmentos solubles presentes, reverso beige con un círculo concéntrico naranja. En CYA5 sin crecimiento. En CYA37 sin crecimiento. En CZ colonia de 17.5mm de diámetro, color verde opaco, de crecimiento bajo y esporulación escasa, de tipo plana, de aspecto velutinoso, sin exudados, sin pigmentos solubles, reverso beige. En YES colonia de 26mm de diámetro, color verde con el centro blanco y verde limón, de crecimiento profundo, esporulación media, de tipo convoluto al centro y plana en el margen, de aspecto velutinoso con el centro flocoso, sin exudados, pigmentos solubles presentes color amarillo, reverso de la colonia color naranja con el centro verde. Conidióforos de 60µm de longitud con paredes lisas, de tipo biverticilado irregular, con 4 métulas de 12-14µm lisas, de forma vesiculada y divergente, cada métula con 4 fiálides acerosas de 16µm, de colula corta y fusiforme, conidios elípticos, lisos, de 4µm (Figura 39).

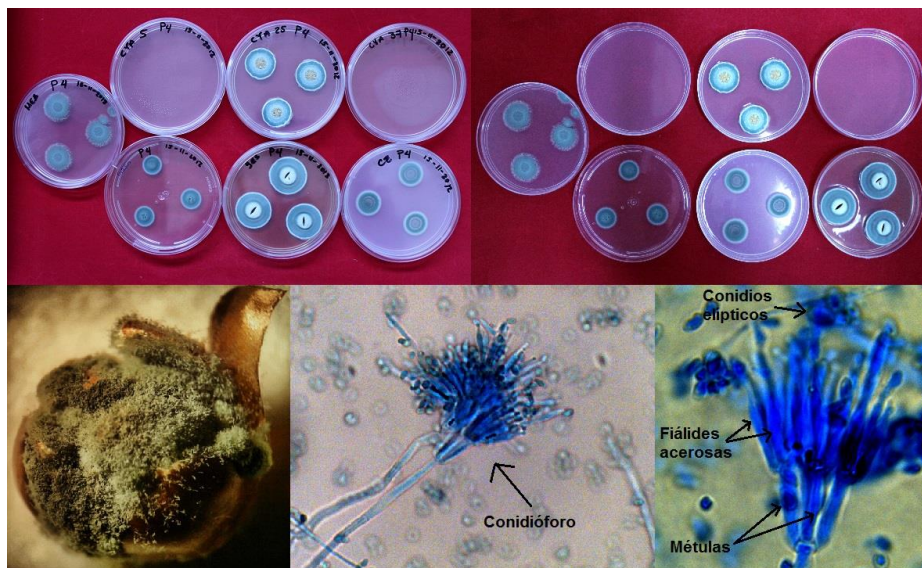


Figura 39. *Penicillium brevicompactum* (arriba: características macroscópicas, abajo: izquierda colonia sobre roseta, centro: 40X-azul algodón, derecha 100X-alcohol polivinílico).

Penicillium crysogenum

Cultivo a 0.5X, 8d: en CYA25 colonia de 21mm de diámetro, color verde olivo con el margen verde azulado, de crecimiento bajo y esporulación media, de tipo plano al centro y sulcado en el borde, de aspecto velutinoso, con exudados color ámbar, sin pigmentos solubles, reverso de la colonia color beige. En MEA colonia de 16.5mm de diámetro, color verde pálido, de crecimiento bajo y esporulación media, de tipo plana y aspecto velutinoso, sin exudados, sin pigmentos solubles, reverso de la colonia color beige. En G25N colonia de 21mm de diámetro, color beige y los bordes color blanco, de tipo plana, de aspecto velutinoso, sin exudados, sin pigmentos solubles presentes, reverso color beige. En CYA5 colonia de 5mm de diámetro, color blanco de tipo plana, de aspecto gelatinoso, sin exudados, sin pigmentos solubles presentes, reverso de la colonia traslucida. En CYA37 sin crecimiento. En CZ colonia de 19.75mm de diámetro, color verde oscuro, de crecimiento bajo y esporulación media, de tipo plana con el centro funiculado, de aspecto velutinoso, sin exudados, sin pigmentos solubles, reverso de la colonia color crema. En YES colonia de 25.5mm de diámetro, color beige oscuro al centro y el margen verde olivo, de crecimiento bajo, esporulación media, de tipo sulcada con el centro de aspecto funiculado, sin exudados, pigmentos solubles presentes color amarillo, reverso de la colonia color naranja con el margen ocre. Conidióforos de 108 μ m de longitud con paredes lisas, de tipo biverticilados, terverticilados y quaterverticilados, con furcación subterminal y divergente, con 4 métulas 16-20 μ m lisas, de forma divergente, cada métula con 3-4 fiálides ampuliformes de 8 μ m, de colula corta y fusiforme, conidios esféricos y elípticos lisos, en columnas, de 2 μ m de longitud (Figura 40).

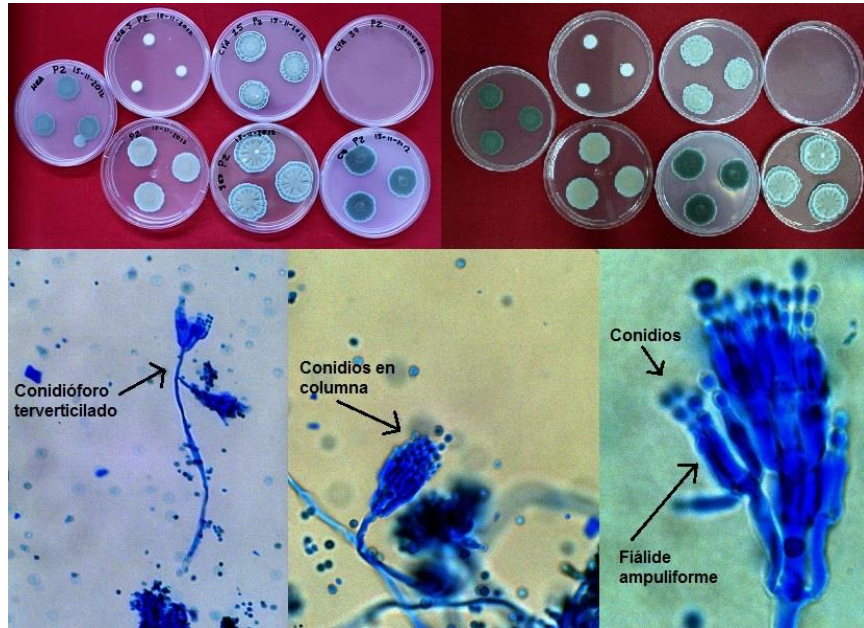


Figura 40. *Penicillium crysogenum* (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 40X-azul algodón, centro: 40X-alcohol polivinílico, derecha 100X-alcohol polivinílico).

Penicillium expansum

Cultivo a 0.5X, 8d: en CYA25 colonia de 28.25mm de diámetro, color beige, de crecimiento bajo y esporulación media, de tipo convoluto al centro y plana en el borde, de aspecto velutinoso, sin exudados, pigmentos solubles presentes color anaranjado, reverso de la colonia color marrón. En MEA colonia de 22.5mm de diámetro, color verde opaco, de crecimiento bajo y esporulación escasa, de tipo plana y aspecto velutinoso, sin exudados, sin pigmentos solubles, reverso de la colonia color beige. En G25N colonia de 28mm de diámetro, color beige con el borde color verde opaco, de tipo convoluto al centro y el margen plano, de aspecto velutinoso con el centro funiculoso, sin exudados, pigmentos solubles presentes color beige, reverso de la colonia color café. En CYA5 colonia de 5mm de diámetro, color blanco de tipo plana, de aspecto velutinoso, sin exudados, sin pigmentos solubles presentes, reverso de la colonia color blanco. En CYA37 sin crecimiento. En CZ colonia de 26mm de diámetro, color verde oscuro, de crecimiento bajo y esporulación media, de tipo plana, de aspecto velutinoso, sin

exudados, sin pigmentos solubles, reverso de la colonia color crema. En YES colonia de 34.91mm de diámetro, color beige oscuro al centro y el margen verde opaco, de crecimiento profundo, esporulación densa, de tipo sulcada con el centro convoluto, de aspecto velutinoso, sin exudados, pigmentos solubles presentes color ocre, reverso de la colonia color café. Conidióforos de 124 μ m de longitud con paredes rugosas, de tipo terverticilado, con furcación subterminal y divergente, con 4 métulas de 12 μ m rugosas, vesiculadas, de forma agrupada, cada métula con 1-4 fiálides cilindroidales de 10 μ m, de colula corta y fusiforme, conidios elípticos, lisos, de 2.5 μ m (Figura 41).

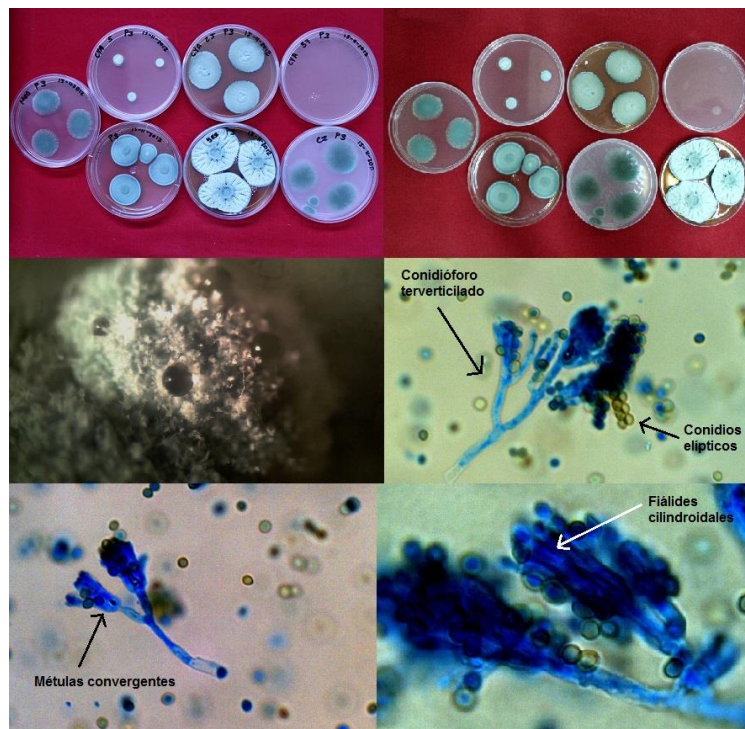


Figura 41. *Penicillium expansum* (arriba: características macroscópicas, centro: izquierda colonia sobre roseta, derecha: 40X-alcohol polivinílico, abajo: izquierda 40X-azul algodón, derecha 100X-alcohol polivinílico).

4.3.3 Hongos de deterioro avanzado

El género *Rhizopus* fue el que se encontró con una carga fúngica mayor (10.50%) mientras que otros hongos de deterioro avanzado determinados fueron reportados

con cargas fúngicas menores tal es el caso de las especies del género *Aspergillus*: *awamori* (1.72%), *clavatus* (0.42%) y *niger* (1.06%), así como también los géneros *Chaetomium* (2.86%), *Mucor* (0.42%) y *Paecilomyces* (1.14%).

La presencia de *Aspergillus niger* y *Rhizopus stolonifer*, son indicativos de que los granos o materias primas han estado almacenados con altos contenidos de humedad y que otros hongos han antecedido en la sucesión microbiana ya que estos hongos se encuentran en materia vegetal en avanzado estado de deterioro (Moreno-Martínez y Gil, 1991).

Aspergillus clavatus esta reportado como mayor productor de la patulina y la citoclastina E (Klich, 2002). La patulina (PAT) es una lactona heterocíclica insaturada, en forma de sólido blanco cristalino, con un punto de fusión de 105–108°C, y con un máximo de absorción a 276 nm. Se trata de una molécula neutra, soluble en agua y en la mayoría de los disolventes orgánicos, excepto en pentano, hexano y poco soluble en éter etílico y benceno. Primeramente la PAT se aisló como un antibiótico durante la década de 1940 (Stott y Bullerman, 1975). Los riesgos crónicos sobre la salud por el consumo de patulina pueden incluir neurotoxicidad, inmunotoxicidad, inmunosupresión, genotóxicidad y teratogénicidad (Ciegler *et al.*, 1976; Korte, 1980; Hopkins 1993; Pfeiffer *et al.*, 1998; Wichmann *et al.*, 2002). Más de 60 especies de hongos se conocen como productores de patulina abarcando unos 30 géneros (Lai *et al.*, 2002), incluidos entre ellos *Penicillium expansum*, *P. crustosum*, *P. roqueforti*, *P. clavigerum*, *P. coprobium*, *P. claviforme* y *Paecilomyces spp.*, (Harwig *et al.*, 1978; Draughon y Ayres, 1980; Aytac y Acar, 1994; Laidou *et al.*, 2001; Moss y Long 2002; Dombrink–Kurtzman & Blackburn, 2005). Cepas productoras de PAT han sido aisladas de una gran variedad de frutas y vegetales incluidas manzanas, uvas, cerezas, peras, albaricoques, caquis, fresas, nectarinas, frambuesas, moras, melocotones, ciruelas, tomates, plátanos, arándanos, pasas, almendras, nueces y avellanas (Demirci *et al.*, 2003; Gökmen *et al.*, 2005).

De los hongos típicamente aislados en alimentos, *Aspergillus niger* es el mayoritario en climas templados, tanto en el campo como durante el almacenamiento. Se podría decir que es la especie de *Aspergillus* responsable de un mayor número de casos de deterioro poscosecha de frutas frescas, incluyendo manzanas, peras, melocotones, naranjas, uvas, higos, fresas, mangos, tomates, melones y algunos vegetales especialmente cebollas, ajos y ñames (Snowdon, 1990). En cuanto a la producción de micotoxinas, es normalmente considerado como un hongo benigno y está clasificado como microorganismo GRAS (generalmente considerado como seguro) por el Gobierno de los Estados Unidos de América (EEUU). A pesar de ello, algunos autores como Abarca *et al.* (1994) encontraron 2 de 19 aislados de *A. niger* productores de OTA o Heenan *et al.* (1998) que encontraron 2 de 115 como productores de la toxina.

Las especies del género *Chaetomium* tienen una distribución cosmopolita, y debido a su propiedad celulolítica desarrollan sobre papel, cartón, tejidos, restos vegetales y semillas almacenadas; también se encuentran en el suelo (Domsch, *et al.*, 1980), sobre estiércol de diferentes aves y mamíferos (Arx *et al.*, 1986) y han sido aislados a partir de muestras clínicas (Hoog *et al.*, 2000), muestras de aire (Kumar *et al.*, 1998; Stchigel *et al.*, 2002), y con menor frecuencia de agua de mar y sedimentos fluviales (Kobayashi *et al.*, 1996; Valenzuela *et al.*, 2001).

4.3.3.1 Registro de las características morfológicas de los hongos de deterioro avanzado

Aspergillus awamori

Cultivo a 0.5X, 8d: en MEA colonia de 41mm de diámetro, color café oscuro con micelio blanco sin exudados presentes, reverso de la colonia color beige opaco sin pigmentos solubles. En CYA25 colonia de 58mm, de color café oscuro micelio blanco y reverso beige claro. En CYA37 colonia de 58mm de diámetro color café oscuro, micelio blanco y exudados hialinos, reverso café oscuro al centro de la colonia y beige en el margen. En CY20S colonia de 67mm de diámetro color café oscuro, micelio blanco y reverso beige claro. En CZ colonia de 43mm color café

oscura con micelio blanco y exudado color ámbar, reverso color beige claro (Figura 42). Conidióforo de 2130 μ m de largo, 14 μ m de ancho de superficie lisa, vesículas de forma globosa de 30 μ m de diámetro, biseriada de 89.1 μ m de diámetro con superficie lisa.

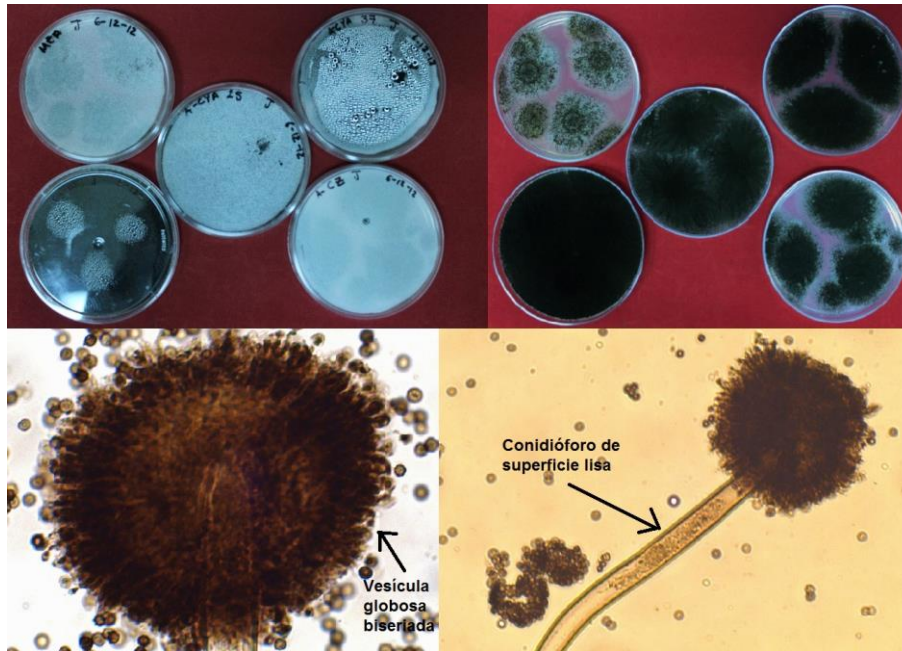


Figura 42. *Aspergillus awamori* (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 40X-lactofenol, derecha: 20X-lactofenol).

Aspergillus clavatus

Cultivo a 0.5X, 8d: en MEA colonia de 20.1mm color verde azulado al centro y beige claro en el margen, micelio blanco, sin exudados, reverso de la colonia color beige claro. En CYA25 colonia de 40.1mm verde azulado opaco y micelio blanco con exudados hialinos, reverso de la colonia verde cremoso. En CYA37 colonia de 25mm color beige claro con conidios globosos hialinos, micelio color beige claro y reverso café al centro y beige en el margen de la colonia. En CY20S colonia de 39mm color verde azulado opaco y micelio blanco, reverso de la colonia color beige claro. En CZ colonia de 39mm color verde azulado opaco y micelio blanco, con exudados hialinos y reverso de la colonia color beige claro. Conidióforo de 688-972 μ m de largo y 20-28 μ m de ancho de superficie lisa, vesícula clavada de 64 μ m de diámetro, uniseriada de superficie lisa de 71 μ m de diámetro (Figura 43).

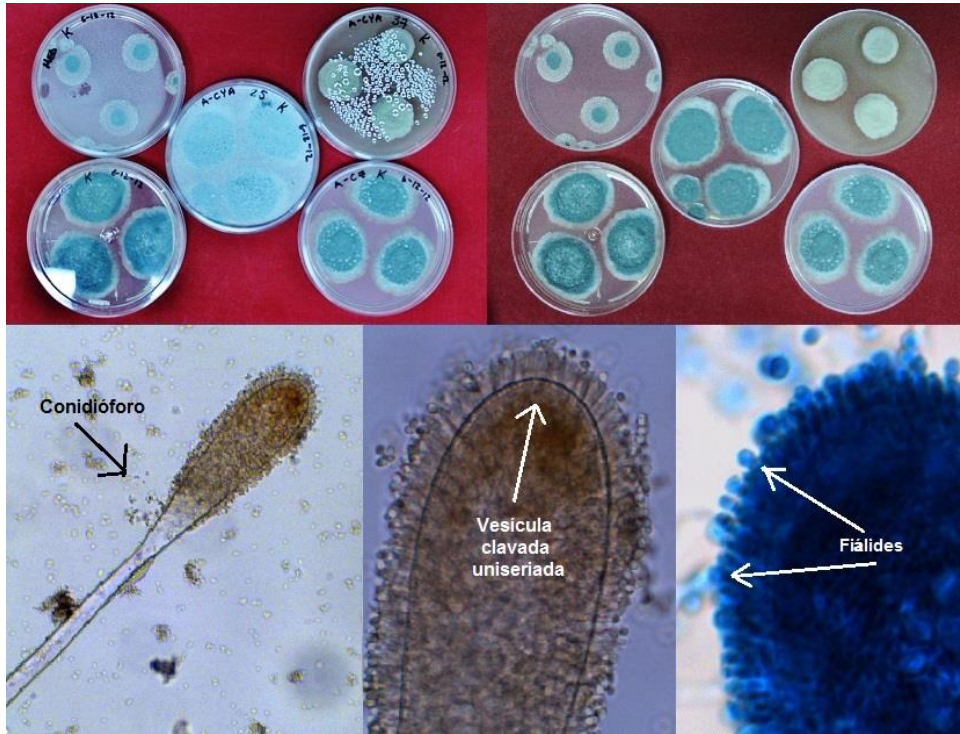


Figura 43. *Aspergillus clavatus* (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 10X-lactofenol, centro: 40X-lactofenol, derecha: 40X-alcohol polivinílico).

Aspergillus niger

Cultivo a 0.5X, 8d: en MEA colonia de 41mm color café al centro y el margen blanco, micelio blanco, sin exudados, reverso color crema. En CYA25 colonia de 63mm café oscuro con un círculo concéntrico blanco al centro, micelio blanco con exudados hialinos, reverso de la colonia color amarillo al centro y el margen color beige claro, esclerocios blancos. En CYA37 colonia de 62mm color café más oscuro al centro, micelio color blanco con exudados hialinos, reverso café claro. En CY20S colonia de 68mm color café obscuro con un círculo concéntrico blanco, micelio blanco sin exudados, reverso de la colonia color beige, esclerocios color crema. En CZ colonia de 59.3mm color café, micelio blanco sin exudados, reverso beige y esclerocios color crema. Conidióforo de 950-1036 μ m de largo y 24 μ m de ancho de superficie granular, vesícula globosa de 62 μ m de diámetro, biseriada con superficie granular de 98-106 μ m de diámetro (Figura 44).

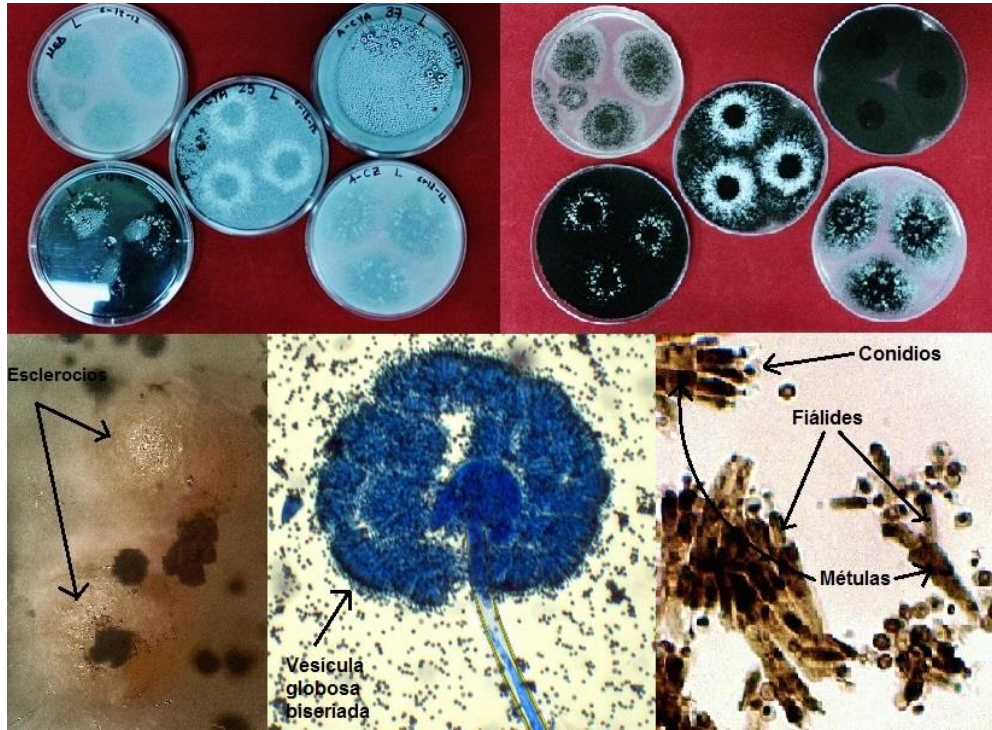


Figura 44. *Aspergillus niger* (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 2X-CZ, centro: 10X-alcohol polivinílico, derecha: 40X-lactofenol).

Chaetomium sp.

Cultivo a 0.5X, 8d: en PDA colonia de crecimiento lento de color gris pardo y micelio blanco, de aspecto algodonoso, con exudado hialino. Ascomas superficiales de tipo peritecio inoperculado de forma globosa de 76-84 μ m de diámetro, de pared traslucida, cubiertos de pelos abundantes de 120-136 μ m de largo color oscuro. Ascas cilíndricas de pared evanescente de 19-23 μ m de largo y 11-14 μ m de ancho con 6 ascosporas. Ascosporas café claro de tipo limoniforme (climbiforme) de 5-6 μ m de largo por 3.5-4.5 μ m de ancho (Figura 45).

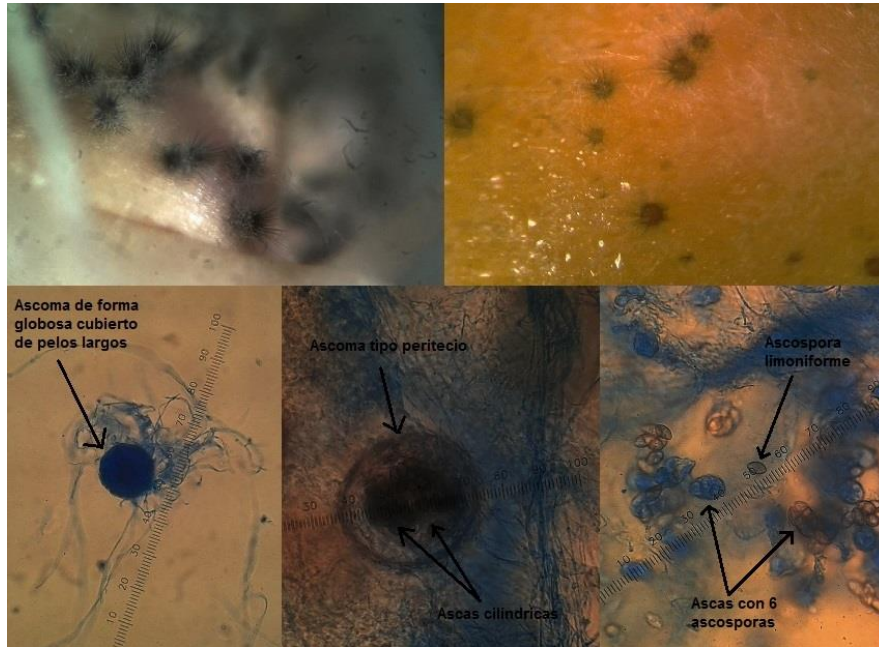


Figura 45. *Chaetomium sp.* (arriba: colonia sobre grano de maíz palomero, abajo: características microscópicas, izquierda: 10X-azul algodón, centro: 40X-azul algodón, derecha: 100X-azul algodón).

Mucor sp.

Cultivo a 0.5X, 8d: en PDA colonia de 53.2mm de crecimiento muy rápido color ámbar de aspecto algodinoso, micelio color blanco. Esporangióforos erectos simples de 148-189 μ m. Esporangio terminal esférico con columela pronunciada de 32.8 μ m de diámetro. Esporangiosporas globosas, hialinas, de 0.6-0.9 μ m de largo (Figura 46).

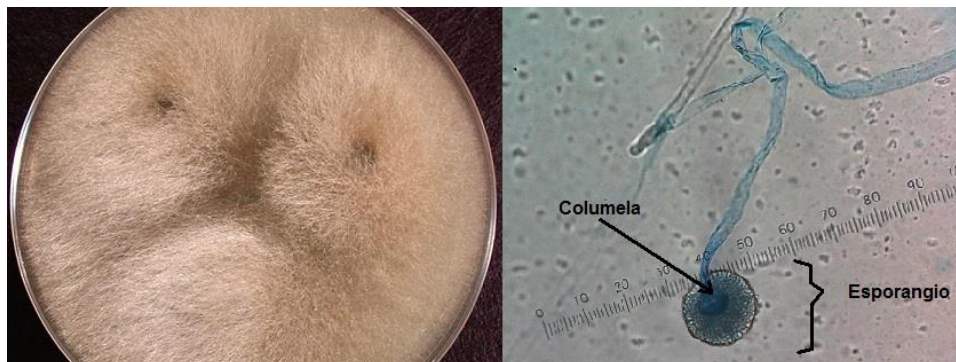


Figura 46. *Mucor sp.* (izquierda: características macroscópicas, derecha: características microscópicas, 10X-azul algodón).

Paecilomyces sp.

Cultivo a 0.5X, 8d: en CYA25 colonia de 21.5mm de diámetro, color beige, de crecimiento medio y esporulación media, de tipo convoluto y aspecto crustoso, con exudados abundantes color ámbar, pigmentos solubles presentes color beige, reverso color beige. En MEA colonia de 15mm de diámetro, color marrón al centro y beige en el margen, de crecimiento bajo y esporulación escasa, de tipo plana con el centro sulcado y aspecto costroso al centro y velutinoso en el margen, sin exudados y sin pigmentos solubles, reverso color marrón al centro y los bordes color amarillo. En G25N colonia de 16mm de diámetro, color blanco, de aspecto sinematoso, con exudados hialinos y pigmentos solubles presentes color amarillo, reverso de la colonia color crema. En CYA5 colonia de 1.5mm, color hialino, micelio verde y reverso crema. En CYA37 colonia de 17mm de diámetro, color crema al centro y blanco en el borde, de aspecto crustoso, con exudados abundantes color durazno, pigmentos solubles presentes color beige, reverso beige con un halo central color naranja. En CZ colonia de 13mm de diámetro, color blanca con el centro verde olivo, de crecimiento bajo y esporulación escasa, de tipo plana y aspecto velutinoso, sin exudados, sin pigmentos solubles, reverso color beige. En YES colonia de 23.75mm de diámetro, color crema, de crecimiento medio y esporulación media, de tipo convoluto y aspecto crustoso, con exudados abundantes color ámbar, sin pigmentos solubles, reverso color durazno. Hifas hialinas septadas, conidióforos de ramificación irregular, de 418-520µm de longitud con 4 métulas de 12.5-15µm de largo por 3.5-4.2µm, de forma cilíndrica ligeramente clavadas hacia la base, cada métula con 4-5 fiálides terminales de forma cilíndrica de 9-10µm de largo por 2.3-2.8µ de ancho, conidios de 2.5µm, de forma elíptica, de pared lisa, formando largas cadenas en la punta de las fiálides (Figura 47).

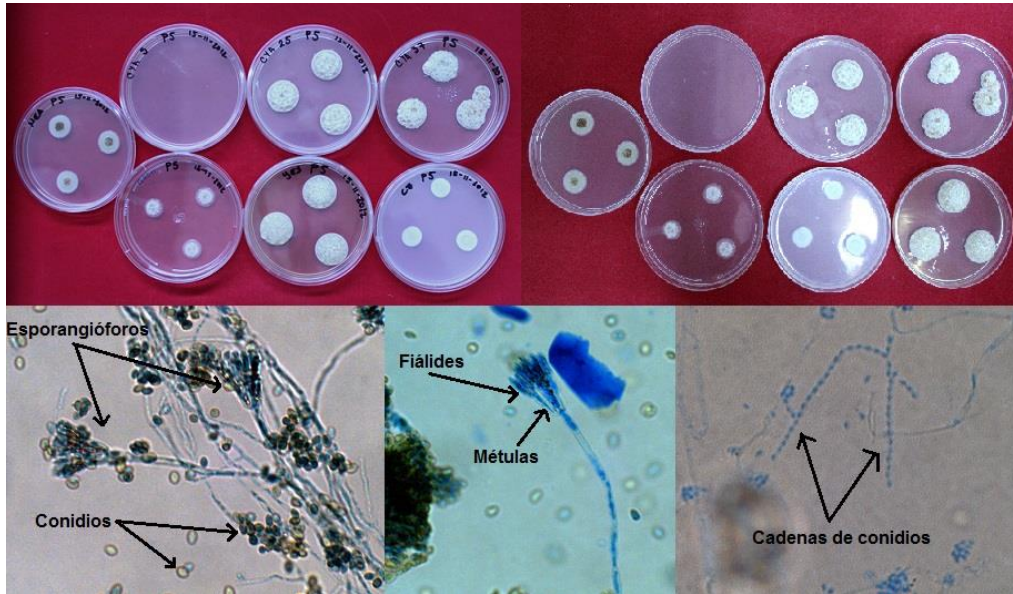


Figura 47. *Paecilomyces* sp. (arriba: características macroscópicas, abajo: características microscópicas, izquierda: 40X-azul algodón, centro: 40X-alcohol polivinílico, derecha 10X-azul algodón).

***Rhizopus* sp.**

Cultivo a 0.5X, 8d: en PDA colonia de crecimiento rápido color blanco de textura algodonosa que se va tornando café grisáceo a negro, reverso hialino, micelio color blanco, sin exudados. Estolones de pared lisa incoloros que se tornan café oscuro, rizoides café oscuro, esporangios globosos color café grisáceo a negro de 80-150 μ m de diámetro, columela ovoide o globosa de 30-90 μ m de diámetro, esporangiosporas ovoides de 3-6 μ m. (Figura 48).

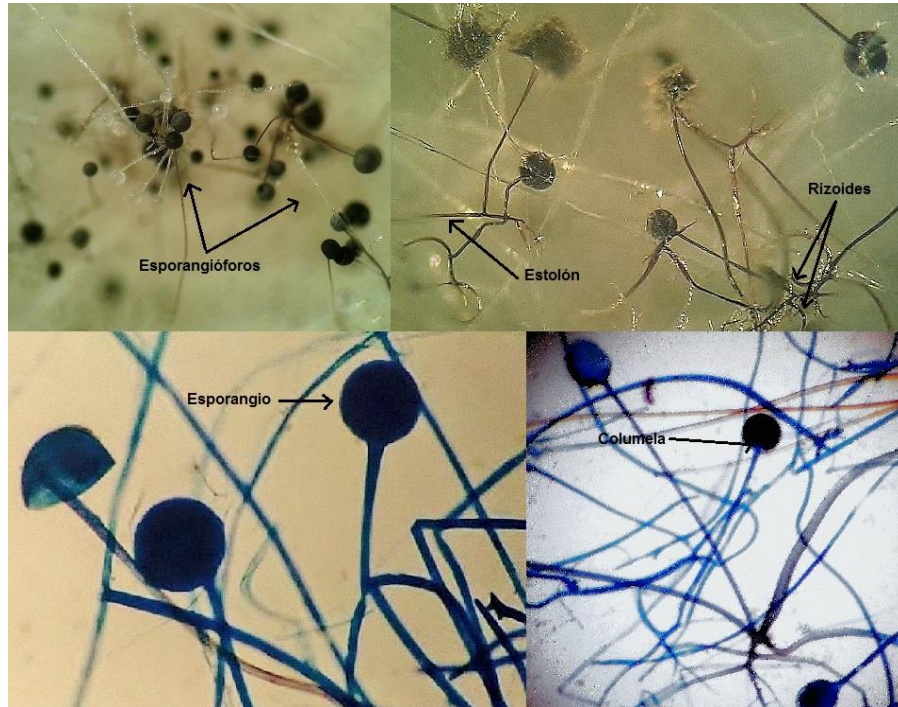


Figura 48. *Rhizopus sp.* (arriba: características macroscópicas, abajo: izquierda 100X-azul algodón, derecha 40X-alcohol polivinílico).

4.4 Efectos de la luz UV-C sobre la microbiota presente en muestras de grano de maíz palomero

El análisis de varianza (ANOVA) realizado mediante el programa SAS® 9.3-2012, indicó la existencia de una diferencia estadísticamente significativa entre los 4 tratamientos de radiación (0, 5, 10 y 20 minutos) probados en muestras de maíz palomero a granel, envasado e industrializado encontrando que no hubo diferencia entre bloques y las R^2 del análisis para todos los grupos estuvieron por arriba del 0.7 (Cuadro 11). Como se planteó en la hipótesis de este trabajo, la luz UV-C mostró un efecto positivo en la reducción en la microbiota natural presente en los granos de maíz palomero siendo estadísticamente significativo para los hongos de almacén (57.16%) donde se encuentran agrupados hongos de los géneros *Aspergillus*, *Eurotium* y *Penicillium*, así como también lo fue para los hongos de deterioro avanzado (70.85%), aunque para los hongos de campo el efecto de reducción no resultó ser estadísticamente significativo, sin embargo si lo fue numéricamente con un porcentaje de reducción del 24.59%. Los hongos

encontrados con mayor frecuencia en todas las muestras fueron los hongos de almacén con una media general de incidencia de 11.74 lo cual concuerda con algunos estudios previos, aunque escasos para México. El uso de la luz UV-C en el control de micobiota natural de granos ha sido poco estudiado para el caso del grano del maíz palomero, sin embargo para el grano de maíz blanco existe evidencia de su efecto positivo en la reducción de estos hongos, Rodríguez *et al.* (2011) caracterizaron tiempos de 0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos reportando diferencias entre tratamientos, siendo los mejores el de 30 y 10 min, observándose reducciones de 42.85 y 52,05 % respectivamente en la reducción únicamente para las especies del genero *Fusarium*, sin embargo para hongos de almacén como *Aspergillus flavus* y de deterioro avanzado como *Mucor* o *Rhizopus* no se obtuvo diferencia significativa en el efecto de los tratamientos en contraste con este trabajo donde en los hongos que existieron mayores efectos fue sobre los hongos de almacén (11 cepas) y los de deterioro avanzado (7 cepas) y con porcentajes mayores de reducción lo cual podría deberse a las características y composición del endospermo y la testa del grano de maíz palomero que es muy diferente al grano de maíz blanco e inclusive a otros granos.

Cuadro 11. Cuadrados medios del error y probabilidad de presencia de hongos en maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana sometidos a diferentes tratamientos con luz UV-C.

F.V.	g.l.	Campo	Almacén	Deterioro	Fusa	Peni	Asper	Eurot
Bloque	3	6.34 ^{ns}	1.85 ^{ns}	5.51 ^{ns}	6.64 ^{ns}	13.53 ^{ns}	2.28 ^{ns}	1.60 ^{ns}
Tratamiento	59	29.85 ^{**}	138.87 ^{**}	63.05 ^{**}	28.56 ^{**}	105.73 ^{**}	103.14 ^{**}	155.01 ^{**}
Muestra	14	108.72 ^{**}	423.50 ^{**}	182.47 ^{**}	109.18 ^{**}	342.44 ^{**}	376.11 ^{**}	565.80 ^{**}
TRUV-C	3	5.53 ^{ns}	577.60 ^{**}	185.22 ^{**}	5.42 ^{ns}	148.20 ^{**}	103.22 ^{**}	210.38 ^{**}
Muestra*TRUV-C	42	5.30 ^{ns}	12.65 ^{**}	14.52 ^{**}	3.34 ^{ns}	23.78 ^{**}	12.14 ^{ns}	14.13 ^{ns}
Error	177	4.05	1.86	5.48	2.88	5.49	9.24	12.01
Media General		2.56	11.74	4.17	2.14	6.18	4.95	10.78
C.V.		78.55	11.61	56.06	79.31	37.86	61.36	32.12
R ²		0.71	0.96	0.79	0.76	0.86	0.78	0.81

FV = fuente de variación; gl = grados de libertad; TRUV-C = tratamientos de radiación con luz UV-C; CV = coeficiente de variación; R² = coeficiente de determinación, calculado para cada variable evaluada en esta investigación (Campo, Almacén, Deterioro, Fusa, Peni, Asper y Eurot); Fusa=*Fusarium*, Peni=*Penicillium*, Asper=*Aspergillus*, Eurot=*Eurotium*. **: altamente significativo (p≤0.001); *: significativo (p≤0.05); ns : no significativo.

Con la finalidad de evaluar el efecto de los tratamientos de radiación UV-C sobre la micobiota natural presente en el maíz palomero se realizó una comparación de

medias por el método de Tukey con una $p \leq 0.05$, como se observa en el Cuadro 12, los tratamientos T2 y T3 (10 y 20 minutos respectivamente) presentaron mayor porcentaje de reducción para todas las muestras (Figura 49) aunque no hubo diferencia significativa entre estos ambos tratamientos, el T3 presentó diferencia numérica respecto del T2, logrando un mayor porcentaje de reducción como en el caso de los géneros *Penicillium* (59.55%), *Aspergillus* (54.26%), *Eurotium* (45.65%) y *Fusarium* (16%). Como se puede observar en la Figura 49 la mayor efectividad de la luz UV-C se registró para los hongos agrupados en la categoría ecológica de almacén, es en este grupo donde encontramos especies como *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, ambos productores de aflatoxinas, así como *Penicillium chrysogenum* y *P. brevicompactum* productores de DON y *Aspergillus ochraceus* productor de ochratoxinas, todas estas micotoxinas con potenciales efectos carcinogénicos para el ser humano.

Cuadro 12. Comparación de medias de presencia de hongos en maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana sometidos a cuatro tratamientos con tiempos de exposición 0, 5, 10 y 20 minutos ante luz UV-C.

	TRUV-C	Campo	Almacén	Deterioro	Fusa	Peni	Asper	Eurot
(T0)	0 control	0.61a	8.59a	1.99a	0.50a	3.14a	2.58a	6.79a
(T1)	5 min	0.46a	4.50b	1.09b	0.31a	2.34b	1.68b	5.00b
(T2)	10 min	0.47a	3.76c	0.78b	0.43a	1.40c	1.28b	3.81c
(T3)	20 min	0.49a	3.68c	0.58c	0.42a	1.27c	1.18b	3.69c
	DHS	0.22	0.45	0.32	0.18	0.46	0.73	1.11

Letras iguales en la columna no son significativamente diferentes (Tukey $p \leq 0.05$); TRUV-C = tratamiento de radiación con luz UV-C; DHS = diferencia mínima significativa; Fusa=*Fusarium*, Peni=*Penicillium*, Asper=*Aspergillus*, Eurot=*Eurotium*.

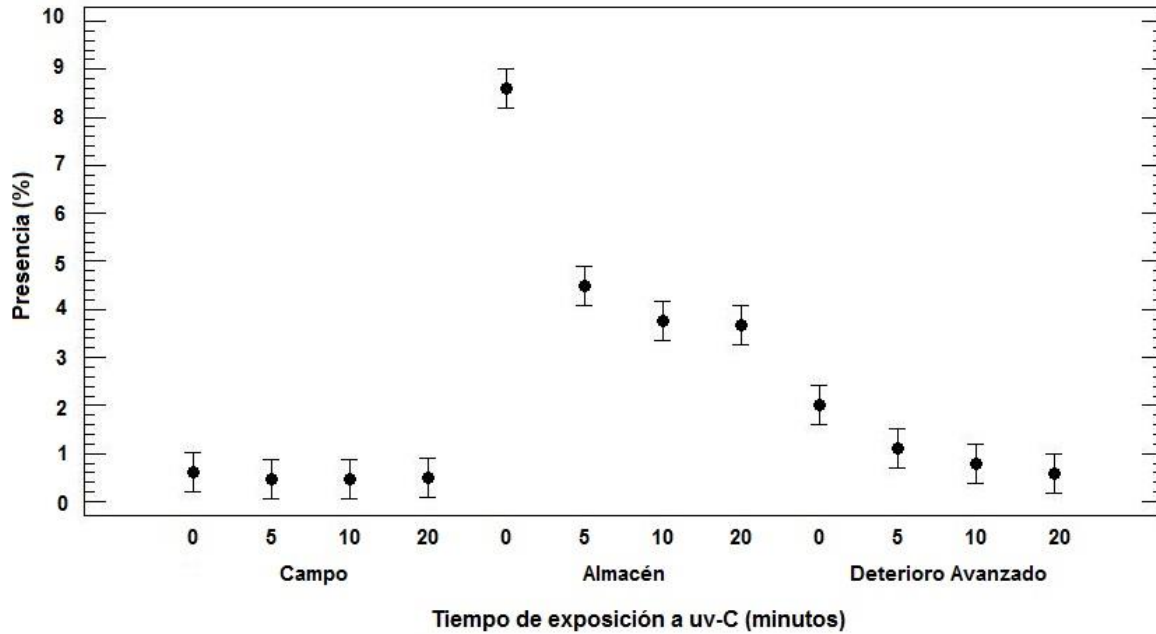


Figura 49. Efecto de cuatro tratamientos de luz UV-C en la micobiota de muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana.

En lo que respecta a las muestras evaluadas como se muestra en el Cuadro 13 los hongos de almacén son los que se presentaron con mayor frecuencia siendo las muestras empacadas e industrializadas donde alcanzan los porcentajes de mayor incidencia como el caso de la muestra Empacado 4 con una media de 11.55%, mientras que en las muestras a granel la media está por debajo del 3.99%. Para los hongos de campo se tiene una media de presencia por debajo del 2.5% encontrando los valores más altos en las muestras Granel 1 (2.20%), Empacado 2 (1.78%) y Empacado 3 (1.21), mientras que para los hongos de deterioro avanzado las medias de presencia se encuentran por debajo del 5% encontrándose los valores más altos en las muestras Empacado 2 y Empacado 3 con porcentajes de 4.19 y 4.73 respectivamente. En general la presencia en mayor porcentaje de hongos de almacén y de deterioro avanzado nos indica que las muestras evaluadas contienen granos viejos y con procesos de almacenaje inadecuado, contrario a lo reportado por Pacin *et al.* (2000) para Buenos Aires, Argentina donde al evaluarse maíz palomero recién cosechado encontraron

principalmente la presencia de hongos de campo como *Alternaria alternata*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticillioides* y *Penicillium funiculosum*.

Cuadro 13. Comparación de medias de presencia de hongos en quince muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana sometidos a diferentes tratamientos con luz UV-C.

Muestra	Campo	Almacén	Deterioro	Fusa	Peni	Asper	Eurot
Granel 1	2.20a	1.95i	1.10a	1.87a	2.76e	0.41d	0.17f
Granel 2	0.08c	2.59h	0.86b	0.06c	0.23h	0.44d	3.36c
Granel 3	0.14c	1.38j	0.80b	0.09c	0.29h	0.32d	1.60e
Granel 4	0.17c	3.58g	0.44b	0.12c	1.84f	1.75c	1.96e
Granel 5	0.14c	3.99f	0.44b	0.11c	2.02e	2.23c	2.05e
Empacado 1	0.00c	0.03k	0.11c	0.00c	0.03h	0.14d	0.03f
Empacado 2	1.78a	6.34d	4.19a	1.75a	0.41g	10.12a	2.17c
Empacado 3	1.21b	7.95b	4.73a	1.13b	4.01b	5.44b	6.10c
Empacado 4	0.23c	11.55a	0.35b	0.20c	9.52a	1.84c	6.63b
Empacado 5	0.26c	5.26e	0.35b	0.17c	1.57f	0.65c	6.37b
Industrial 1	0.53c	4.52e	0.53b	0.41c	0.62g	0.53c	6.25b
Industrial 2	0.20c	4.94e	0.68b	0.06c	0.23h	0.26d	7.35b
Industrial 3	0.32c	4.69e	0.83b	0.11c	0.80f	0.83c	6.01c
Industrial 4	0.11c	10.83a	0.29b	0.03c	3.45c	0.00d	13.12a
Industrial 5	0.23c	7.36c	0.95b	0.12c	2.79e	0.23d	9.16b
DHS	0.57	1.17	0.82	0.48	1.19	1.87	2.86

Letras iguales en la columna no son significativamente diferentes (Tukey $p \leq 0.05$); DHS = diferencia mínima significativa; Fusa=*Fusarium*, Peni=*Penicillium*, Asper=*Aspergillus*, Eurot=*Eurotium*.

4.5 Determinación de aflatoxinas y fumonisinas presentes en muestras de grano de maíz palomero

De las 15 muestras evaluadas en el 73.33% se detectaron aflatoxinas en un intervalo de 2 a 38 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, mientras que en el 100% de las muestras se detectaron fumonisinas en un intervalo entre 380-2600 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ como se muestra en el Cuadro 14. Resultados que son similares para el caso de las fumonisinas y contrastan con lo reportado por Dowd & Johnson (2010) quienes evaluaron la presencia de micotoxinas en campos productores de maíz palomero en Illinois, E.U.A., principal país de procedencia de este grano, encontrando como frecuentes las fumonisinas y el deoxynivalenol (DON), pero no se reportó la presencia de aflatoxinas.

Cuadro 14. Contenido de aflatoxinas y fumonisinas totales presentes quince muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana.

Muestra	Procedencia	Aflatoxinas ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Fumonisinias ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Granel 1	México	2	960
Granel 2	México	18	1320
Granel 3	México	4	600
Granel 4	México	0	380
Granel 5	México	0	1500
Empacado 1	E.U.A.	8	600
Empacado 2	México	6	2200
Empacado 3	Canadá	0	2600
Empacado 4	E.U.A.	10	1620
Empacado 5	México	0	1080
Industrial 1	México	12	ND
Industrial 2	E.U.A.	38	860
Industrial 3	México	6	800
Industrial 4	México	4	1600
Industrial 5	México	16	700

Resulta evidente que en los estudios realizados en cosecha y post-cosecha reciente, la calidad biológica del grano se vea afectada por especies de campo de los géneros *Fusarium* y *Alternaria* principalmente (Pacin *et al.*, 2000) lo que está relacionado con la presencia de fumonisinas principalmente, en este trabajo la evaluación se realizó directamente en el producto ofertado al consumidor de forma comercial en sus diferentes presentaciones a granel, envasado e industrializado, al encontrar una mayor frecuencia en la presencia de hongos de almacén y de deterioro avanzado nos permite entender que los procesos de almacén e industrialización tienen muchas deficiencias en el control factores físicos que permiten que el grano sea invadido por hongos productores de micotoxinas en especial de aflatoxinas que son un parámetro legislado por diferentes países incluidos México donde el límite máximo permisible para esta toxina es de 20 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ (NOM-247-SSA1-2008) siendo que una de las muestras procedente de EUA, presentó 38 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ muy por encima de lo permitido por la legislación mexicana. En el caso de las fumonisinas el 50% de las muestras están por arriba de los límites máximos permitidos por la Comisión Europea (CE) mientras que en México no se contempla ninguna regulación para esta micotoxina (van Egmond *et*

al., 2005) lo que representa potenciales riesgos para la salud humana (CAST 2003), sin embargo en otros países como Estados Unidos, la Agencia de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA) y el comité mixto FDA-OMS (FDA, 2011) han establecido provisionalmente una ingesta diaria tolerable de 2 µg/kg de peso corporal al conjunto de fumonisinas totales (B1 + B2 + B3) ingeridas (Cortez-Rocha *et al.*, 2003). Generalmente, los hongos toxígenos desaparecen de los granos o productos en los que han crecido, al verse limitados por condiciones desfavorables para su crecimiento, quedando solamente las micotoxinas, lo cual hace difícil verificar la calidad sanitaria de un determinado producto (Moreno-Martínez, 1988), lo cual ha despertado el interés mundial en el conocimiento de los hongos toxigénicos y los contenidos de sus toxinas en los alimentos. En el 2004 en Makueni y Kenia fue reportada la muerte de 125 personas por el consumo de maíz contaminado con aflatoxinas y recientemente Dotis *et al.* (2007) reportaron desde 1950 hasta el 2005 en el ámbito mundial la muerte del 65,4% de los casos de aflatoxicosis afectando el sistema nervioso central. En África y en China se han evidenciado correlaciones epidemiológicas entre la incidencia del cáncer esofágico en humanos y la presencia de alimentos y piensos contaminados con *Fusarium verticillioides* (Rheeder *et al.*, 1992). Asimismo, Carvajal (2013) encontró correlaciones positivas y significativas en los niveles de aflatoxinas libre detectadas en hígados con hepatocarcinoma celular en humanos.

4.6 Determinación del porcentaje de reventado del grano

Se encontró una diferencia numérica entre los tratamientos de radiación T2 y T3, siendo el tiempo de 20 minutos de exposición a luz UV-C en el que se observó una tendencia en la reducción de microbiota natural en los granos de maíz palomero, se decidió caracterizar los efectos asociados a la aplicación de la luz UV-C sobre el material biológico como es el caso del reventado o popping. Se encontró una diferencia significativa con un valor de F de 20.2 para una $\alpha=0.05$ en el reventado de los granos como se muestra en el Cuadro 15, así como aumento significativo del 2.4% en el reventado de los granos tratados durante 20 minutos con UV-C respecto de los granos no tratados (Figura 50).

Cuadro 15. Análisis de varianza para el reventado de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana tratado con luz UV-C durante 0 y 20 minutos.

F.V.	S.C.	g.l.	C.M	F	Valor-P
Muestra	132.4	14	9.5	5.9	0.000000**
Tratamiento	32.4	1	32.4	20.2	0.000000**
Repetición	4.2	2	2.1	1.3	0.276113 ^{ns}
Error	115.4	72	1.6		

FV = fuente de variación; gl = grados de libertad; SC = suma de cuadrados; CM = cuadrados medios; F = Estadístico de Snedecor; **: altamente significativo ($p \leq 0.001$); ^{ns}: no significativo.

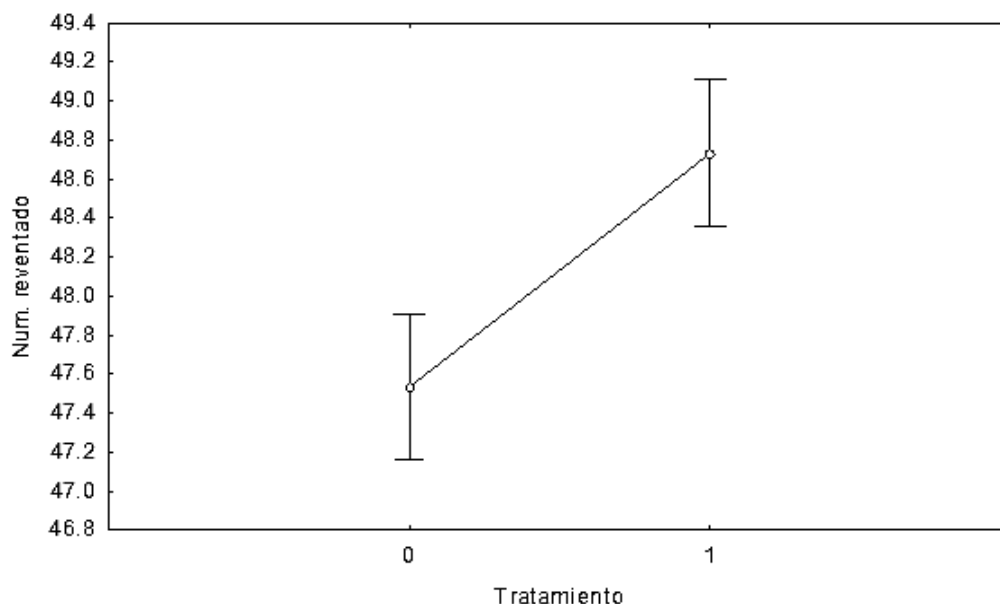


Figura 50. Prueba de reventado en maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana tratado con luz UV-C durante 0 y 20 minutos.

4.7 Determinación de la micobiota en el grano reventado (rosetas)

Después de la prueba de reventado se registró el crecimiento de 11 cepas las cuales fueron identificadas, 9 a nivel de especie: *Penicillium aurantiogriseum*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus niger*, *Dreschlera dermatoides*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium brevicompactum* *Bipolaris spicifera*, *Alternaria alternata* y *Penicillium expansum*; *Chaetomium* y *Cladosporium* fueron identificadas solo hasta género. No existió una diferencia estadística significativa entre los granos que fueron tratados con 0 y 20 minutos de radiación de UV-C antes del reventado respecto de la micobiota encontrada como se observa en el Cuadro 16, los

porcentajes de presencia de hongos fue mínima las medias de la presencia de hongos clasificados ecológicamente se puede apreciar en la Figura 51 en donde se observa que para el caso de los granos sin irradiar el porcentaje de presencia varía desde 0.016 a 0.026% mientras que en los granos tratados con 20 minutos el porcentaje de incidencia varía desde 0 a 0.0088%.

Cuadro 16. Análisis de varianza para la micobiota presente en maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana reventado después de ser tratado durante 0 y 20 minutos con luz UV-C.

F.V.	S.C.	g.l.	C.M	F	Valor-P
Muestra	0.842	42	0.019	1.59	0.0229 ^{ns}
Tratamiento	0.019	1	0.003	1.70	0.0176 ^{ns}
Repetición	1.002	6	0.096	0.42	0.8607 ^{ns}
Error	1.022	135			

FV = fuente de variación; gl = grados de libertad; SC = suma de cuadrados; CM = cuadrados medios; F = Estadístico de Snedecor; **: altamente significativo ($p \leq 0.001$); ^{ns}: no significativo.

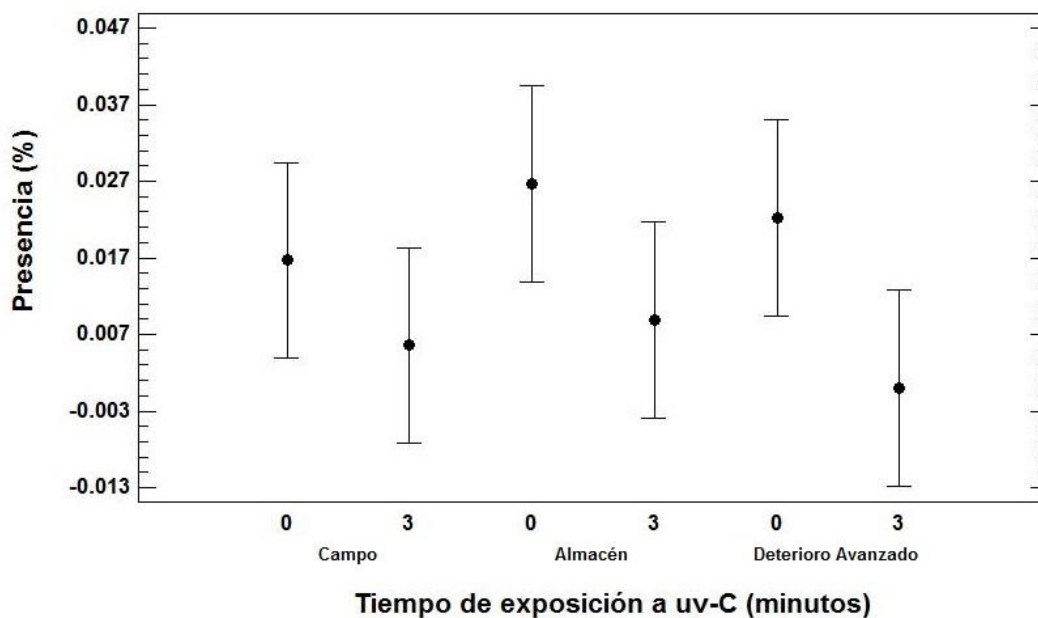


Figura 51. Comparación de medias del porcentaje de presencia de micobiota de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana reventado después de ser tratado durante 0 y 20 minutos con luz UV-C.

4.8 Determinación del contenido de humedad

Se encontró que una diferencia significativa para el contenido de humedad determinado por peso seco en los granos tratados respecto de los granos no tratados (Cuadro 16), en la Figura 52 se muestra el gráfico donde se observa la tendencia en la reducción del contenido de humedad de todas las muestras tratadas con luz UV-C durante 20 minutos. Con la radiación se logró reducir significativamente en un 20.5% el contenido de humedad de las muestras evaluadas lo que también podría explicar el aumento en el porcentaje de reventado. La tecnología de extrusión usada en la industria productora de cereales para desayuno, botanas y alimentos para animales, en donde el maíz palomero es usado como edulcorante en las harinas, pese a que los granos son sometidos a alta presión y a temperaturas que varían entre los 100 y 150°C las aflatoxinas principalmente y las fumonisinas secundariamente pueden prevalecer, aunque está reportado que las fumonisinas disminuyen significativamente bajo condiciones de poca humedad (Torres-Sánchez *et al.*, 2010), por lo que estos efectos positivos de la luz UV-C tanto para el reventado como para el contenido de humedad indican que esta técnica de irradiación podría utilizarse como una medida alternativa en el mejoramiento de la calidad biológica del producto a diferentes niveles, post-cosecha, en almacén o en los diferentes procesos de industrialización.

Cuadro 16. Prueba de medias para el contenido de humedad en muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana sometido a 2 tratamientos de radiación con UV-C.

F.V	Media	Desv. Est.	N	Err. Est.	Valor - t	g.l	Valor - P
T0	10.72348	1.084884	15	0.280116	38.28232	14	0.000000**
T3	8.52577	0.817475	15	0.211071	40.39284	14	0.000000**

FV = fuente de variación; Desv. Est. = desviación estándar típica; N = tamaño de muestra; Err. Est. = error estándar; Valor-t = Estadístico T-Student; gl = grados de libertad; **: altamente significativo ($p \leq 0.001$).

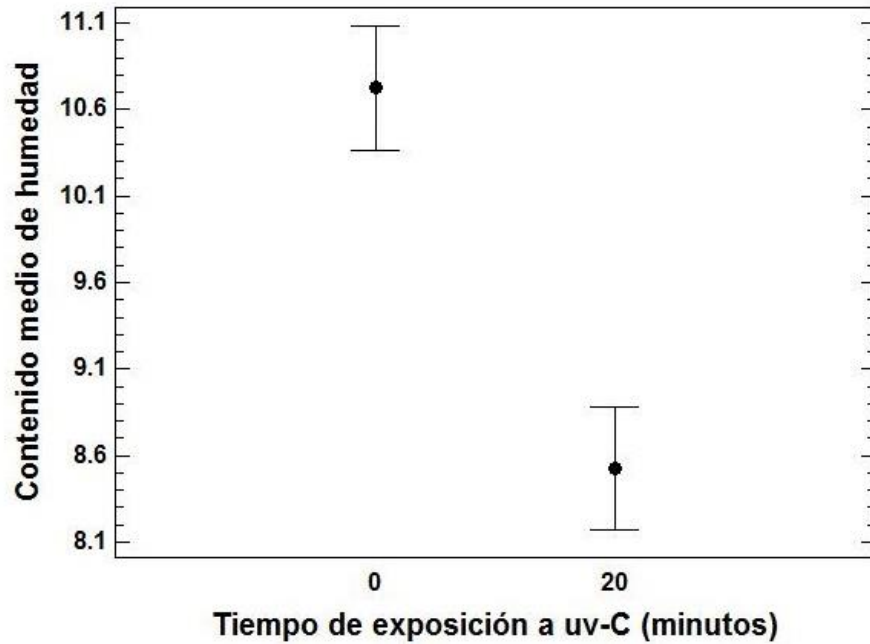


Figura 52. Contenido medio de humedad en muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana sometido a 2 tratamientos de radiación con UV-C.

CONCLUSIONES

En las muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana se encontraron 26 especies de hongos pertenecientes a los siguientes géneros: *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Paecilomyces*, *Aspergillus*, *Eurotium*, *Penicillium*, *Chaetomium*, *Rhizopus* y *Mucor*, siendo los hongos clasificados ecológicamente como de almacén y los de deterioro avanzado los que presentaron el mayor porcentaje de incidencia 4.58 y 2.60% respectivamente.

Respecto del tamaño de grano las muestras evaluadas resultaron tener similitudes para las dimensiones ancho y espesor incluso estar en promedio 9.3% por encima del estándar, pero no así para la dimensión largo del grano, ya que resultó estar un 20.54% por debajo del estándar establecido para considerarse como grano de alto valor agregado.

La luz UV-C mostró un efecto positivo en la reducción en la micobiota natural presente en los granos de maíz palomero siendo estadísticamente significativo para los hongos de almacén (57.16%) y para los hongos de deterioro avanzado (70.85%), mientras que para los hongos de campo el efecto de reducción no resultó ser estadísticamente significativo, aunque si se observó una tendencia positiva en la reducción del 24.59%. El tratamiento con 10 y con 20 minutos de exposición resultaron ser los más eficaces con un porcentaje de reducción del 55.1 y 57.6 % respectivamente con una $\alpha = 0.05$, aunque entre ellos no existió diferencia significativa estadísticamente.

Del total de las muestras evaluadas 11 resultaron positivas para el contenido de aflatoxinas totales (73.33%) en un intervalo de 2-38 $\mu\text{g/Kg}$, únicamente una muestra estuvo por encima de los límites máximos permitidos por Norma Oficial Mexicana (20 $\mu\text{g/Kg}$). El 100% de las muestras presentaron fumonisinas en un intervalo entre 380-2600 $\mu\text{g/Kg}$, en México no existe legislación que establezca

límites en el contenido de esta micotoxina, pero de acuerdo con lo establecido por la Comisión Europea (CE) el 50% de las muestras estuvieron por encima del límite máximo permitido por esta comisión para granos usados en alimentación humana que es de 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, mientras que el 100% de las muestras están por encima del límite establecido para granos de uso en alimentos para bebés y niños que es de 200 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

Se encontró un aumento significativo del 2.4% en el reventado de los granos tratados durante 20 minutos con UV-C con respecto de los granos sin tratar así como una reducción de manera significativa en un 20.5% en el contenido de humedad, lo que podría explicar el aumento en el reventado del grano.

RECOMENDACIONES

Las muestras evaluadas correspondieron al producto disponible para venta ante el consumidor final, por lo que resultaría complementario realizar un muestreo en las principales empacadoras de este producto ya que la microbiota natural encontrada nos indicó que para este muestreo la calidad sanitaria del grano es deficiente. Así mismo, se recomienda ampliar estos estudios a las regiones donde se cultiva este grano con la finalidad de conocer más sobre la calidad del maíz palomero nacional.

El empleo de luz UV-C en el mejoramiento de la calidad sanitaria del maíz palomero mostró una tendencia positiva en la reducción de la microbiota aunque no existió diferencia significativa entre los 10 y 20 minutos de exposición siendo importante experimentar empleando lapsos comprendidos entre estos dos tiempos a fin de lograr un tiempo que minimice el tiempo de exposición y maximice la reducción de los hongos presentes en este grano.

Durante la revisión de la normatividad resultó muy deficiente para nuestro país por lo que se recomiendan estudios que vayan encaminados a una caracterización más profunda sobre los efectos toxicológicos de las micotoxinas que deriven en propuestas y revisiones de la normativa vigente.

Los resultados obtenidos en la evaluación de los efectos de la luz UV-C sobre las propiedades físicas del grano resultaron positivos en cuando al contenido de humedad y al reventado, por lo que se recomienda profundizar mediante técnicas que permitan la caracterización física del grano a fin de optimizar la técnica de radiación con UV-C como auxiliar en la calidad sanitaria de granos de consumo humano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abarca, M.L., Bragulat, M.R., Castellá, G., Accensi, F., Cabañes, F.J. 1997. New ochratoxigenic species in the *Aspergillus* genus. J Food Prot., 60, 1580-1582.
2. Abarca, M.L., Bragulat, M.R., Castellá, G., Cabañes, F.J. 1994. Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. Appl. Environ. Microbiol, 60, 2650–2652.
3. Abouzied, M.M., Azcona, J.I., Braselton, W.E., Pestka, J.J. 1991. Immunochemical assessment of mycotoxins in 1989 grain foods: Evidence for deoxynivalenol (vomitoxin) contamination. Appl. Environ. Microbiol., 57, 672–677.
4. Adobe Systems Incorporated. 2015. Adobe Illustrator CC®.
5. Agrios, G.N. 1985. Fitopatología. Limusa, México, 756 pp.
6. Alborch L., Bragulat, M.R., Castellá, G., Abarca, M.L., Cabañes, F.J. 2012. Mycobiota and mycotoxin contamination of maize flours and popcorn kernels for human consumption commercialized in Spain. Food Microbiology, ELSEVIER, 32, 97-103.
7. Allende, A., Artes F. 2003. Combined ultraviolet-C and modified atmosphere packaging treatments for reducing microbial growth of fresh processed lettuce. Food Sci. Technol., 36, 739-746.
8. Allende, A., McEvoy J.L., Luo Y., Artes F., Wang C.Y. 2006. Effectiveness of two-side UV-C treatments in inhibiting natural microflora and extending the shelf-life of minimally processed 'Red Oak Leaf' lettuce. Food Microbiology, 23, 241-249.
9. Almond Board of California. 2007. Almond action plan pasteurization treatments. En: <http://www.almondboard.com>
10. Anderson, E. 1946. Maize in Mexico. A preliminary survey. Ann. Mo. Bot. Gard., 33, 147-247.
11. Anderson, E. and H.C. Cutler. 1942. Races of *Zea mays*. I. Their recognition and classification. Ann. Mo. Bot. Gard., 29, 69-88.

12. Andrade-Cuvi, M.J., Moreno-Guerrero, C., Henríquez-Bucheli, A., Gómez-Gordillo, A., Concellón, A. 2010. Influencia de la radiación UVC como tratamiento postcosecha sobre carambola (*Averrhoa carambola* L.) mínimamente procesada almacenada en refrigeración. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 11(1), 18-27.
13. Aragón, C.F, Figueroa, J.DC., Flores, M.Z, Gaytán, M.M., Véles, M.J.J. 2012. Calidad Industrial de Maíces Nativos de la Sierra Sur de Oaxaca. Libro Técnico No. 15. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Santo Domingo Barrio Bajo, Etlá, Oaxaca, México. 249 p.
14. Arx, J.A. von, Guarro, J., Figueras, M.J. 1986. The ascomycete genus *Chaetomium*. *Beihefte zur Nova Hedwigia*, 84, 1-162.
15. Aytac, S.A., Acar, J. 1994. Effect of L-ascorbic acid and sulfur dioxide addition to the stability of patulin in apple juice and buffer solutions. *Ernährung*, 1, 15–7.
16. Bacon, C., and Nelson, P.E. 1994. Fumonisin production in corn by toxigenic strains of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. *Journal of Food Protection*, 57, 514-521.
17. Baka, M., Mercier, J., Cocuff, R., Castaigne, F., Arul, J. 1999. Photochemical treatment to improve storability of fresh strawberries. *Journal of Food Science*, 64, 1068-1072.
18. Baldauf, S.L., Palmer, J.D. 1993. Animals and fungi are each others closest relatives-congruent evidence from multiple proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 90, 11558-11562.
19. Barkai-Golan, R. 2008. *Alternaria* Mycotoxins. In: Barkai-Golan, R., and N. Paster (eds). *Mycotoxins in Fruits and Vegetables*. Academic Press, California, USA, 185- 204.
20. Barr, D.J.S. 1992. Evolution and kingdoms of organisms from the perspective of a mycologist. *Mycologia*, 84, 1-11.

21. Battaglia, R., Hatzold, T., Kroes, R. 1996. "Conclusions from the workshop on ochratoxin in food, organized by ILSI Europe in Aix-en-Provence 10-12 January 1996". Food additives and contaminants, 13, 1-3.
22. Begum, M., Hocking, A.D, Liskelly, D. 2009. Inactivation of food spoilage fungi by ultra violet (UVC) irradiation. International Journal of Food Microbiology, 129, 74-77.
23. Bejarano, A., y V. Segovia. 2000. *Origen del maíz*. In: Fontana N.H., González, N.C. (eds). 2000. El maíz en Venezuela. Fundación Polar. Caracas. 530 pp.
24. Benz, B.F. 1986. Taxonomy and evolution of Mexican maize. In: Studies in the Neolithic and Urban revolutions. Manzanilla, L. (ed). University of Colorado, Boulder, CO. 121-136.
25. Benz, B.F. 2006. Maize in the Americas. In Staller, J.E., Tykot, R.H., Benz, B.F. (ed.) Histories of Maize. Elsevier-Academic Press. EUA., 9-20.
26. Berbee, M.L., and J.W. Taylor. 2001. Fungal molecular evolution: gene trees and ecologic time. In D. J. McLaughlin, E. G. McLaughlin, y P. A. Lemke (eds.), The Mycota, Vol. 7B, Systematics and evolution, 229-245. Springer-Verlag, New York, New York, USA.
27. Bezuidenhout, S.C., Gelderblom, W.C.A., Gorst-Allman, C.P., Horak, R.M., Marasas, W.F.O., Spiteller, G., and Vleggaar, R. 1988. Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. Journal of Chemical Society Communication, 19, 743-745.
28. Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E., and Robinson, R. 2000. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80, 637-545.
29. Bird, R. McK. 1980. Maize Evolution from 500 BC to the present. Biotropica, 12 (1), 30-41.
30. Birzele, B., Prange, A., Krämer, J. 2000. Deoxynivalenol and ochratoxin A in German wheat and changes of level in relation to storage parameters. Food Addit. Contam., 17, 1027-1035.

31. Bringel, J.M.M., Moraes, M.H.D., Menten, J.O.M., and Bedendo, I. P. 2001. *Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja produzidas na Região de Balsa, Maranhão*. Summa Phytopathologica, Jaboticabal, 27(4), 438-441.
32. Canady, R.A., Coker, R.D., Egan, S.K., Krska, R., Kuiper-Goodman, T., Olsen, M., Pestka, J., Resnik, S., Schlatter, J. 2001. Deoxynivalenol. In Safety evaluation of certain mycotoxins in food. Geneva: World Health Organization, 420– 529.
33. Carlile, M., Watkinson, S.C., & Gooday, G.W. 2001. The fungi. (2nd ed., pp. 57-79). London, England: Academic Press.
34. Carrasco-Ríos. 2009. Effect of ultraviolet-B radiation in plants. *Idesia (Arica)*, 27 (3), 59-76.
35. Carvajal, M. 2013. Transformación de la aflatoxina B₁ de alimentos, en el cancerígeno humano aducto AFB₁-ADN. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas UNAM*, 16, 109-120.
36. Casa, R.T., e Reis, E.M. 2000. Doenças dos órgãos aéreos da aveia. *Rev. Corre Agrí.*, 1, 18-21.
37. CAST, 2003. Mycotoxins: Risks in plant, animal, and human systems. Council of Agricultural Science and Technology, CAST, Ames, IA. Task Force Report No. 139. 199 pp.
38. Cavalier-Smith, T. 2001. What are fungi? In D.J. McLaughlin, E.G. McLaughlin, and P.A. Lemke (eds), *The Mycota*, vol. 7^a, Systematics and evolution, 3-37. Springer-Verlag, New York, New York, USA.
39. Chavez, E. 1913. El cultivo del maíz. Secretaría de Fomento, Dirección General de Agricultura, Boletín 74 (Estación Agrícola Central). México.
40. Christensen, C.M. and Kufmann, H.H. 1969. Grain storage: the role of fungi in quality loss. University of Minnesota Press. Minneapolis. 153 p.
41. Ciegler, A., Beckwith, A.C., Jackson, L.K. 1976. Teratogenicity of Patulin and Patulin Adducts Formed with Cysteine. *Applied and Environmental Microbiology*, 31(5), 664-667.

42. CONABIO. 2010. Argumentación para conservar las razas de maíces nativos de México. Disponible en: [http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/pdf/proyecto/Anexo6 ReunionesTalleres/Tabla%20razas marzo%202010. pdf](http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/pdf/proyecto/Anexo6_ReunionesTalleres/Tabla%20razas_marzo%202010.pdf)
43. CONABIO. 2011. Base de datos del proyecto global “Recopilación, generación, actualización y análisis de información acerca de la diversidad genética de maíces y sus parientes silvestres en México”. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. Disponible en: <http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/proyectoMaices.html>
44. CONABIO. 2012. Maíces y Razas de Maíces, portal Biodiversidad Mexicana de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. Disponible en: <http://www.biodiversidad.gob.mx/ usos/maices/razas2012.html>
45. Cornelissen, B.J.C., Melchers, L.S. 1993. Strategies for control of fungal diseases with transgenic plants. *Plant. Physol.*, 101, 709-712.
46. Cortez-Rocha, M.O., Ramírez-Astudillo, W.R., SánchezMariñez, R.I., Rosas-Burgos, E.C., Wong-Corral, F.J., Borboa-Flores, J., Castellón-Campaña, L.G., and TequidaMeneses, M. 2003. Fumonisin and fungal species in corn from Sonora, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 70, 668-673.
47. D’Ovidio, K.L., Trucksess, M.W., Devries, J.W., Bean, G. 2007. Effects of irradiation on fungi and fumonisin B(1) in corn, and of microwave-popping on fumonisins in popcorn. *Food Addit Contam.*, 24(7), 735-43.
48. Demirci, M., Arici, M., Gumus, T. 2003. Presence of patulin in fruit and fruit juices produced in Turkey. *Ernaehrungs-Umschau*, 50(7), 262–3.
49. Denli y Pérez. 2006. Contaminación por Micotoxinas en los Piensos: Efectos, Tratamientos y Prevención. Disponible en: www.Etsia.upm.es/fedna/capitulos/06CAP I.pdf
50. Desjardins, A.E., Plattner, R.D., and Nelson, P.E. 1994. Fumonisin production and other traits of *Fusarium moniliforme* strains from maize in Northeast Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*, 60, 1695-1697.

51. Dombrink-Kurtzman, M.A., and Blackburn, J.A. 2005. Evaluation of several culture media for production of patulin by *Penicillium* species. *Int. J. Food Microbiol.*, 98, 241–248.
52. Domsch, K.H., Gams, W. and Andreson, T-H. 1980. *Compendium of soil fungi*. Vols 1 y 2. Academic Press Ltd., London, England. 859 pp.
53. Dotis, J., Iosifidis, E., Roilides, E. 2007. Central nervous system aspergillosis in children: a systematic review of reported cases. *Int J Infect Dis.*, 11, 381-393.
54. Dowd, P.F., Johnson, E.T. 2010. Field incidence of mycotoxins in commercial popcorn and potential environmental influences. *Mycotox Res*, 26, 15–22.
55. Draughon, F.A., Ayres, J.C. 1980. Insecticide inhibition of growth and patulin production in *Penicillium expansum*, *Penicillium urticae*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus terreus*, and *Byssochlamys nivea*. *J Agric Food Chem.*, 28, 1115–7.
56. Ellis, M.B. 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. CAB International. Kew, Surrey, UK. 608 p.
57. Ellis, M.B. 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.
58. European Union Comments for the Codex Committee on Contaminants in Foods. 2010. Report of the fourth session of the Codex Committee on Contaminants in Foods Izmir, Turkey, 26-30 April.
59. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2015: FAOSTAT (FAO Statistical Databases) Agriculture, Fisheries, Forestry, Nutrition. Rome, Italy. Disponible en: <http://faostat.fao.org/>
60. FDA (Food and Drug Administration). 2011. Guidance for Industry. Fumonisin Levels in Human Foods and Animal Feeds. Disponible en: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/fumongu2.html>
61. Figueroa, C.J.D., Narváez, G.D.E., Mauricio, S.A., Taba, S., Gaytán, M.M., Vélez, M.J.J., Rincón, S.F. y Aragón, C.F. 2013. Propiedades físicas del

- grano y calidad de los grupos raciales de maíces nativos (criollos) de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36, 305-314.
62. FIS (International Seed Federation). 1999. Seed treatment is a tool for sustainable agriculture. Chemin du Reposour 7 CH-12260 NYON / Suiza, 2-8.
63. Gallardo, R.E., Ibarra, M.G., Sánchez, M.R., Cuamea, C.G., Molina, G.D., Parra, V.N.V., Rosas, B.E., y Cortez, R.M. 2006. Micobiota de maíz recién cosechado y producción de fumonisina B1 por cepas de *Fusarium verticillioides*. *Ver. Mex. Fitopatol.*, 24(1), 27-34.
64. García, L., Espinosa, C., y Bergvinson, D. 2007. Manual de plagas en granos almacenados y tecnologías alternas para su manejo y control. Unidad de entomología, Programa Global de Maíz. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo CIMMYT, México, 2-8p.
65. Gardner, D.W.M., y Shama, G. 2000. Modeling uv-induced inactivation of microorganisms on surfaces. *Journal of Food Protection*, 63(1), 63-70.
66. Gareis, M., Schothorst, R.C., Vidnes, A., Bergsten, C., Paulsen, B., Brera, C., Miraglia, M. 2003. 'SCOOP task 3.2.10. Collection of Occurrence Data of Fusarium Toxins in Food and Assessment of Dietary Intake by the Population of EU Member States'. Disponible en: <http://europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/task3210.pdf>
67. Gökmen, V., Acar, J., Sarioglu, K. 2005. Liquid chromatographic method for the determination of patulin in apple juice using solid-phase extraction. *Analytica Chimica Acta*, 543(1-2), 64-69, 0003-2670.
68. Gómez R.R., Figueroa, J.D.C., Gayosso, M.C., Ramírez, E.M., Hernández, A.D.F., Ledesma, L.R., Bilbao, T.R. 2006b. Investigaciones sobre maíz en el Estado de Hidalgo, Mex. Compilación Libro SEP-Instituto Nacional del Derecho de Autor. Núm. de registro 03-2006-100614302100-01. 87 p.
69. Gómez, R.R., Figueroa, J.D.C., Gayosso, M.C., Ramírez, E.M., Hernández, A.D.F. 2006a. Maíces criollos del Altiplano del Estado de Hidalgo. Libro SEP-Instituto Nacional del Derecho de Autor. Núm. de registro 03-2006-100614290800-01. 80 p.

70. Goodman, M.M., and Bird, R.McK. 1977. The races of maize IV: Tentative grouping of 219 Latin American races. *Economic Botany*, 31, 204-221.
71. Gritz, D.C., Lee, T.Y., McDonnell, P.J., Shih, K., Baron, N. 1990. Ultraviolet radiation for the sterilisation of contact lenses. *CLAO Journal*, 16, 294-298.
72. Grove, J.F. 1988. Non-macrocylic trichothecenes. *Nat. Prod Rep.*, 5, 187-209.
73. Grove, J.F. 2000. Non-macrocylic trichothecenes. Part 2. *Chem. Org. Nat. Prod.*, 69, 1-70.
74. Guerrero-Beltrán, J.A., Barbosa-Cánovas, G.V. 2004. Advantages and Limitations on Processing Foods by UV Light. *Food Science Technology International*, 10(3), 137-147.
75. Guerzoni, Maria. "Position Paper on Some Aspects Concerning Foodborne Diseases and Food Toxicity in the Mediterranean Areas." The Techno-Economic Analysis Network for the Mediterranean (TEAM), Working Group on Food Technology and Toxicity in the Mediterranean, 1999. En: www.jrc.es/projects/euromed/TEAM/FoodToxicity/foodtoxicityguerzoni.pdf
76. Guzmán, G. 1998. Inventorying the fungi of Mexico, *Biodiversity and Conservation*, 7, 369-384.
77. Hanlin, R. 1998. *Illustrated genera of Ascomycetes. Volume I.* APS Press. Minnesota, USA. 263 p.
78. Harwig, J., Blanchfield, B.J, Scott, P.M. 1978. Patulin production by *Penicillium roqueforti* Thom from grape. *Can Inst Food Sci Technol J.*, 11(3), 149-51.
79. Hassaneín, R.A. 2009. Physiological Effects of nicotidamide and Ascorbic Acid on *Zea mays* plant grow under salinity stress. *Research Journal of Agruculture and Biological Sciences*, 72-78.
80. Hawksworth, D.L. 1991. The fungal dimension of biodiversity: Magnitude, significance, and conservation, *Mycological Research*, 95, 641-655.
81. Hawksworth, D.L. 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited, *Mycological Research*, 105, 1422-1432.

82. Heckman, D.S., Geiser, D.M., Eideli, B.R., Stauffer, R.L., Kardos, N.L., Hedges, S.B. 2001. Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants. *Science*, 293, 1129-1133.
83. Heenan, C.N., Shaw, K.J., and Pitt, J.I. 1998. Ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* and *A. niger* isolates and detection using coconut cream agar. *J Food Mycol.*, 1, 76–82.
84. Hernández, C., J. M. 2010. Proyecto FZ016 “Conocimiento de la diversidad y distribución actual del maíz nativo y sus parientes silvestres en México. Segunda etapa 2008-2009”. Informe final del Estado de México y D. F. INIFAP, Campo Experimental Valle de México. 17 p.
85. Hernández, X., E. y G. Alanís F. 1970. *Estudio morfológico de cinco razas de maíz de la Sierra Madre Occidental de México: Implicaciones filogenéticas y fitogeográficas*. *Agrociencia*, 5(1), 3-30.
86. Hernández-Casillas, J.M. 1999. La diversidad del maíz mexicano y su conservación. In: *Memorias del 2do. Taller Nacional de Especialidades de Maíz*. V. J. Espinoza, C. J. del Bosque (eds). Saltillo, Coah. 1-13.
87. Hibbett, D.S., and Binder, M. 2001. Evolution of marine mushrooms. *Biological Bulletin*, 201, 219-322.
88. Hidaka, Y. and Kubota K. 2006. Study on the sterilization of grain surface using UV radiation — Development and evaluation of UV Irradiation Equipment. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 40, 157-161.
89. Hoog, G.S., Guarro, J., Gené, J. and Figueras, M.J. 2000. *Atlas of clinical fungi*. 2nd.ed. Utrecht, The Netherlands: CBS. 1126 p.
90. Hopkins, J. 1993. The toxicological hazards of patulin. *Br Ind Biol Res Assoc Bull*, 32, 3–4.
91. IARC (International Agency for Research on Cancer). 2002. Aflatoxins. Disponible en: www.inchem.org/documents/iarc/vol82/82-04.html
92. ISTA (International Seed Testing Association). 2010. International rules for seed testing. *Rules. Seed Sci. Technol. (Suppl.)*, 24, 1-335.

93. Jiménez, M., Máñez, M., Hernández, E. 1996. Influence of water activity and temperature on the production of zearalenone in corn by three *Fusarium* species. *Int. J. Food Microbiol.*, 29, 417–421.
94. Kato, Y., T.A. 1996. Revisión del estudio de la introgresión entre maíz y teocintle. En: J.A. Serratos, M.C. Willcox y F. Castillo. *Flujo Genético entre maíz criollo, maíz mejorado y teocintle: Implicaciones para el maíz transgénico*, México, D.F. CIMMYT. 48-57.
95. Kelly, I. and Anderson, E. 1943. Sweet corn in Jalisco. *Ann. Mo. Bot. Gard.*, 30, 405-412.
96. Khachatourians, G.G., Qazi, S.S., Reid, W.R. 2008. Biochemistry and molecular biology of entomopathogenic fungi. In: Brakhage, A.A., Zipfer, P.F., (eds). *The Mycota VI: human and animal relationships*. Springer, Heidelberg, 1-42.
97. Khadre, M.A., Yousef, A.E., and Kim, J.G. 2001. "Microbiological aspects of ozone applications in food: a review," *Journal of Food Science* 66(9), 1242-1252.
98. Khankhoje, P. 1930. "Nuevas variedades de maíz". *Boletín de Investigación. Estación Experimental Agrícola, ENA. Chapingo, México*, 10 p.
99. Kiecana, I., and M. Cegiélko. 2007. Pathogenicity of *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. to selected oat (*Avena sativa* L.) genotypes. *Plant Breeding Seed Sci.*, 56, 31-45.
100. Klich, M. 2002. *Identification of common Aspergillus species*. Louisiana, USA. Centraalbureau voor Schimmelcultures. 116 p.
101. Kobayashi, H., Namikoshi, M., Yoshimoto, T. and Yokochi, T. 1996. A screening method for antimutagenic and antifungal substances using conidia of *Pyricularia oryzae*, modifications and application to tropical marine fungi. *J Antibiot.*, 49, 873-879.
102. Koch-Schneider, A., Téllez, M.C., Franco, R.C.L. 2010. *Maíz Palomero: Identificación de oportunidades estratégicas para el desarrollo del Estado de Guanajuato (IOED) Fase II*. Secretaría de Desarrollo

- Económico Sustentable. Guanajuato, Gobierno del Estado y TEC de Monterrey. 69 pp.
103. Korte, A. 1980. Chromosomal analysis in bone marrow cells of Chinese hamsters after treatment with mycotoxins. *Mutat Res.*, 78, 41-9.
 104. Kozakiewicz, Z., Paterson, R.R.M., Bridge, P.D. 1993. Novel approaches to the identification of mycotoxin producing *Penicillium* species. In: Scudamore (Ed.). Occurrence and significance of mycotoxins. London, Central Science Laboratory, 64-75.
 105. Krivobok, S., Seigle-Murandi, F., Steiman, R., Creppy, E.E. 1995. Fungal flora and ochratoxin A production in various food and feed in France. *System Appl Microbiol.*, 18, 455-459.
 106. Kuiper-Goodman, T., Scott, P.M., McEwen, N.P., Lombaert, G.A. 1996. Approaches to the risk assessment of fumonisins in corn-based foods in Canada. *Adv Exp Med Biol.*, 392, 369-393.
 107. Kuleshov, N.N. 1930. Maíces de México, Guatemala, Cuba, Panamá y Colombia (Según las colecciones de N.S. Bukasov). Pp. 40-53 In: *Las Plantas Cultivadas de México, Guatemala y Colombia. Traducción al Español por Jorge León. CATIE, Turrialba, Costa Rica, 1981. 173 p.*
 108. Kumar, N.B., Nanda, A. and Behera, N. 1998. Airborne fungal spores in an industrial area: seasonal and diurnal periodicity. *Aerobiologia*, 14, 59-67.
 109. Kurowski, T.P., and U. Wysocka. 2009. Fungal communities colonizing grain of hulled and naked oat grown under organic farming system. *Phytopathologia*, 54, 53-59.
 110. Kwan Hoong Ng. 2003. Radiation Effects and Protection in Diagnostic Radiology. Asian-Oceanian Textbook of Radiology Eds. Wilfred CG Peh & Yoshihiro Hiramatsu, TTG Asia Media, Singapore. 176-183.
 111. Kwaśna, H. 1995. Ecology, taxonomy and nomenclature of Helminthosporia — history and actual situation. Chelkowski J. (ed.). Helminthosporia Metabolites, Biology, Plant Diseases. *Bipolaris, Drechslera, Exserohilum*. Poznań, Poland, 27-60.

112. Lagunas, S.M.C., Zeng, N.X., Essert, T.K., Truong, T.D., and Piña, U.C. 2006. Review: Radiofrequency power disinfects and disinfests food, soils and wastewater. *California Agriculture*, 60(4), 192-199.
113. Lai, C.L., Fuh, Y-M., Shih, D.Y-C. 2000. Detection of mycotoxin patulin in apple juice. *J Food Drug Anal*, 2, 85–96.
114. Laidou, I.A., Thanassoulpopoulos, C.C., Liakopoulou-Kyriakides, M. 2001. Diffusion of patulin in the flesh of pears inoculated with four post-harvest pathogens. *J Phytopathol.*, 149, 457–61.
115. Lang, B.F., O’Kelly, C., Nerad, T., Gray, M.W., Burger, G. 2002. The closest unicellular relative of animals. *Current Biology*, 12, 1773-1778.
116. Leslie, J.F., Summerell, B.A., and Bullock, S. (2006) *The Fusarium Laboratory Manual*, Blackwell Publishers, Malden, MA.
117. Llorens, A., Mateo, E., Hinojo, M.J., Logrieco, A., Jiménez, M. 2004. Influence of the interactions among ecological variables in the characterization of zearalenone producing isolates of *Fusarium* spp. *System. Appl. Microbiol.*, 27, 253–260.
118. Lombaert, G.A., Pellaers, P., Roscoe, V., Mankotia, M., Neil, R., Scott, P.M. 2003. Mycotoxins in infant cereal foods from the Canadian retail market. *Food Addit. Contam.*, 20, 494–504.
119. Lutzoni, F., Kauff, F., Cox, C. J., McLaughlin, D., Celio, G., Dentinger, B., ... & Vilgalys, R. 2004. Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits. *American journal of botany*, 91(10), 1446-1480.
120. Marin, S., Vellunti, A., Ramos, A.J., and Sanchis, V. 2004. Effect of essential oils on zearalenone and deoxynivalenol production by *Fusarium graminearum* in non-sterilized maize grain. *Food Microbiology*, 21, 313-318.
121. Marquenie, D., Lammertyn, J., Geeraerd, A.H., Soontjens, C., Van Impe J.F., Nicolai, B.M., and Michiels, C.W., 2002. Inactivation of conidia of *Botrytis cinerea* and *Monikinia fructigena* using UV-C and heat treatment. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1-2), 25-37.

122. Mauricio, R.A.S., Figueroa, J.D.C., Taba, S., Reyes, M.L.V., Rincón, F.S., Mendoza, A.G. 2004. Characterization of maize accessions by grain and tortilla quality traits. *Rev. Fitotec. Mex.*, 27, 213-222.
123. Miller, J.D. 1995. Fungi and mycotoxins in grain: implications for stored product research. *J. Stored Prod. Res.*, 31, 1–16.
124. Mills, J.T., Abramson, D., Frohlich, A.A., Marquardt, R.R. 1989. Citrinin and ochratoxin A production by *Penicillium* spp. from stored durum wheat. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 11, 357-360.
125. Moltó, G., Samar, M.M., Resnik, S., Martínez, E.J, Pacin, A. 2000. Occurrence of trichothecenes in Argentinean beer. A preliminary exposure assessment. *Food Addit. Contam.*, 17, 809–813.
126. Moore, D., Robson, D. G., and Trinci, P.J.A. 2011. 21st Century Guidebook to Fungi. Cambridge University Press. United Kindom. 605p.
127. Moreno, E. y Ramírez, J. 1991. El combate de los hongos de almacén. Folleto Técnico en Conservación de Granos. México, 2, 39-60.
128. Moreno, M. E., Vazquez, B.M. 2000. Use of propionic acid salt to inhibit aflatoxin production in stored grains of maize. *Agrociencia*, 34, 004 Texcoco, México, 477-484.
129. Moreno, M. Ernesto. 1ª ed. 1988. Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados. UNAM, DR, México, D.F., 109pp.
130. Moreno, M.E. 1998. Manual for the Identification of Fungi in grains and their derivatives (in Spanish). University Food Program UNAM, México, 109.
131. Moreno-Martínez, E., Gil, M. 1991. La biología de *Aspergillus flavus* y la producción de aflatoxinas. México DF., México. Coordinación de la Investigación Científica. Programa Universitario de Alimentos, Universidad Nacional Autónoma de México.42p.
132. Moss, M.O., Long, M.T. 2002. Fate of patulin in the presence of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Addit Contam.* 19(4), 387–99.

133. Nagy, H.A., Souzan, R.M. 2004. Effect of γ -irradiation on aflatoxin B1 production by *Aspergillus flavus* and chemical composition of three crop seeds. *Food / Nahrung*, 48, 234-238.
134. Narváez-González, E.D., Figueroa, J.D.C., Taba, S., Castaño, I.E., Martínez-Peniche, R., Rincón, F.S. 2006. Relationships between the microstructure, physical features and chemical composition of different maize accessions from Latin America. *Cereal Chem.*, 83, 595-604.
135. Neergard, P. 1977. *Seed pathology*, John Wiley and Sons. New York. 1019p.
136. Nilrattanakhun, W. 2003: *Control of Aflatoxin Contamination of Corn*. Food and Fertilizer Technology Center (FFTC). Practical Technology. Postharvest. En: <http://www.agnet.org/library/pt/2003012>.
137. NORMA Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba.
138. Pacin, A.M., Boca, R.T., González, H.L., Resnik, S.L., Burak, R., Broccoli A.M., de Souza, J.C. 2002. Natural occurrence of mycotoxins and mycoflora of Argentinean popcorn. *Mycotoxin Res.*, 18, 90–96.
139. Peráica, M., Radic, B., Lucic, A., Pavlovic, M. 1999. Efectos tóxicos de las micotoxinas en los seres humanos. *Bulletin of World Health Organisation*, 77, 54-766.
140. Perales, R., H.R. 2009. Maíz, riqueza de México. *Ciencias*, (92-93), 46-55.
141. Pfeiffer, E., Gross, K., Metzler, M. 1998. Aneuploidogenic and clastogenic potential of the mycotoxins citrinin and patulin. *Carcinogenesis*, 19, 1313-8.

142. Pitt, J.I., Hocking, A.D. 1997. *Fungi and Food Spoilage*. 2º ed. London, Wienheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras: Blackie Academic & Professional.
143. Pitt, John I. 1979. The genus *Penicillium* and its teleomorphics states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press Inc, London.
144. PROFECO. 2008. El Laboratorio Reporta: Palomitas de maíz para microondas. *Revista Consumidor*, Febrero, 50-61.
145. Reyes, C.P. 1990. El maíz y su cultivo. Agteditor S.A. México, D.F.
146. Rheeder, J.P., Marasas, W.F.O., and Vismer, H.F. 2002. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 2101-2105.
147. Rheeder, J.P., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Sydenham, E.W., Shephard, G.S. & van Schalkwyk, D.J. 1992. *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. *Phytopathology*, 82, 353–357.
148. Riley, R.T., Norred, W., and Bacon, C. 1993. Fungal toxins in foods: Recents concerns. *Annual Review of Nutrition*, 13, 167-189.
149. Riley, R.T., Wang, E., Schroeder, J.J., Smith, E.R., Plattner, R.D., Abbas, H., Yoo, H.S., and Merrill, A.H. 1996. Evidence for disruption of sphingolipid metabolism as a contributing factor in the toxicity and carcinogenicity of fumonisins. *Natural Toxins*, 4, 3-15.
150. Rivera, D.M., Gardea, B.A.A., Martínez, T.M.A., Domínguez, R.M., y González, A.G.G. 2007. Review: Postharvest biochemical effects of UV-C irradiation on Fruit and vegetables (in Spanish). *Rev. Fit., A.C.*, 4, 361-372.
151. Robens, Jane. 2001. The Costs of Mycotoxin Management to the USA: Management of Aflatoxins in the United States. American Phytopathological Society. Disponible en: www.apsnet.org/online/feature/mycotoxin/top.html
152. Robledo, M.D., Marin, S., Ramos, A.J. 2002. Natural contamination with mycotoxins in forage maiza and green coffee in Nayarit State (Mexico). *Rev. Iberoam. Micol.*, 18(3), 141-144.

153. Rodríguez, P.C.L., Pérez, R.M.C., Hernández, A.C., Domínguez, P.F.A., Moreno, M.E., Cruz, O.A., López, B.J.L. 2011. Control of natural microbiota in maize grains by ultraviolet (UVC) irradiation. *Acta Agrophysica*, 18(2), 375-388.
154. Romero-Contreras, T., González-Díaz L., Reyes-Reyes G. 2006. Geografía e historia cultural del maíz palomero toluqueño (*Zea mays everta*). *Ciencia Ergo Sum*. En: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10413106> ISSN 1405-0269
155. Sánchez, G.J.J. 2011. *Diversidad del Maíz y el Teocintle*. Informe preparado para el proyecto: Recopilación, generación, actualización y análisis de información acerca de la diversidad genética de maíces y sus parientes silvestres en México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Manuscrito.
156. Sánchez, J.J., Goodman, M.M., and Stuber, C.W. 2000. Isozymatic and morphological diversity in the Races of maize of México. *Economic Botany*, 54(1), 43-59.
157. Sanderson, M.J., Thorne, J.L., Wikström, N., Bremer, K. 2004. Molecular evidence on plant divergence times. *American Journal of Botany*, 91, 1656-1665.
158. SAS (Statistical Analysis System for Windows). 2012. Release 9.3. SAS Institute Inc., Cary, N. C. USA.
159. SCOOP (Scientific Cooperation Task 3.2.10 of the European Commission). 2003. Collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU Member States. Final report. Directorate – General Health and Consumer Protection. European Commission, Brussels, Belgium.
160. Scott, P.M. 1996. Mycotoxins transmitted into beer from contaminated grains during brewing. *J. AOAC Int.*, 79, 875–882.
161. Serratos, J.A. 2012. 2ª ed. El origen de la diversidad del maíz en el continente americano. México: Universidad Nacional Autónoma de México y Green Peace México. 39 pp.

162. Serratos-Hernández, J.A., Islas-Gutierrez, F., Berthaud, J. 2001. Maize production, land races of maize and teosinte distribution in Mexico: Elements for gene flow scenarios and risk assessment of transgenic maize release. En prensa, UNIDO.
163. Shim, W.B., Kim, J.C., Seo, J.A., Lee, Y.W. 1997. Natural occurrence of trichothecenes and zearalenone in Korean and imported beers. *Food Addit. Contam.*, 14, 1–5.
164. SIAP (Servicio de información agroalimentaria y pesquera). 2015. “Anuario Estadístico de la Producción Agrícola”. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo>
165. Simmons, E.G. 2007. *Alternaria: An Identification Manual*. Fungal Biodiversity Centre, CBS Biodiversity Series No. 6. Utrecht, the Netherlands. 775 p.
166. Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. *Mycological Papers*, 158, 1-261.
167. Snowdon, A.L. 1990. *A Color Atlas of Post-Harvest Diseases and Disorders of Fruits and Vegetables 1. General Introduction and Fruits*. London: Wolfe.
168. Soriano del Castillo, J.M. 2007. *Micotoxinas en Alimentos*. Ed. Díaz de Santos.
169. Stchigel, A.M., Figuera, L., Cano, J., Guarro, J. 2002. New species of *Thielavia*, with a molecular study of representative species of the genus. *Mycological Research*, 106, 975–983.
170. Stevens, C., Khan, V.A., Lu, J.Y., Wilson, C.L., Pusey, P.L., Igwegbe, E.C.K., Kabwe, K., Mafolo, Y., Liu, J., Chalutz, E., Droby, S. 1997. Integration of ultraviolet (UV-C) light with yeast treatment for control of post harvest storage rots of fruits and vegetables. *Biological Control*, 10, 98-103.
171. Stott, W. T., Bullerman, L. B. 1975. Influence of carbohydrate and nitrogen source on patulin production by *P. patulum*. *Applied Microbiology*, 30 (5), 850-854.

172. Sturtevant, E. L. 1899. Varieties of corn. USDA Off. Exp. Stn. Bull, 571-1108.
173. Torres, M.R., Sanchis, V., Ramos, A.J. 1998. Occurrence of fumonisins in Spanish beers analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay method. *Int. J. Food Microbiol.*, 39, 139–143.
174. Torres-Sánchez, L., López-Carrillo L. 2010. Fumonisin intake and human health. *Salud Pública México*, 52, 461-467.
175. Tran, T.T., Farid, M., 2004. Ultraviolet treatment of orange juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5, 495-502.
176. Trigo-Stockli, Dionesia and Tim Herrman. 2000. Mycotoxins in feed grains and ingredients. Kansas State University Research and Extension, MF-2061. Manhattan.
177. Udagawa, S. 1988. Mycotoxicoses – the present problems and prevention of mycotoxins. *Asian Med. J.*, 31, 599–604.
178. Ulloa, M., Hanlin R. 2006. Nuevo diccionario ilustrado de Micología. The American Phytopathological Society, Minnesota. 672 p.
179. US Popcorn board. 2015. Industry Facts. Disponible en: <http://www.popcorn.org>
180. Valadez, G.J. y Reyes, M.C.A. 2011. Rendimiento de grano de maíz palomero (*Zea mays Everta*) en temporal, con Micorriza arbuscular INIFAP® en el sur de Tamaulipas México. Memorias del IV Congreso Internacional Biológico-Agropecuario. Tuxpan Veracruz México 21-23 de Septiembre de 2011. 808-813.
181. Valenzuela, E., Santibañez, C., Leiva, S. y García, H. 2001. Hongos aislados desde sedimentos del lago Riñihue y afluyentes, X región (Chile). *Bol Micol.*, 16, 79-85.
182. van Egmond, H.P., Jonker, M.A. 2005. Worldwide regulations of aflatoxins. In: Abbas, H.K., (ed) *Aflatoxins and food safety*. Taylor and Francis, Boca Raton, pp 77–93.
183. van Heerwaarden J., Doebley, J., Brings, W.H., Glaubitz, J.C., Goodman, M.M., Sánchez, G.J.J., y Ross-Ibarra, J. 2011. Genetic signals of

- origin, spread, and introgression in large sample of maize landraces. Proceedings of the National Academy of Sciences, 108 (3), 1088-1092.
184. Vasilevsky, G., 2003. Perspectives of the application of biophysical methods in sustainable agriculture. Bulgarian J. Plant Physiol., Special Issue, 179-186.
185. VICAM. 1999. Mycotoxin Testing System. Aflatest. Somerville, M.A.
186. Wainright, P.O., Hinkle, G., Sogin, M.L., y Stickel, S.K. 1993. Monophyletic origins of the Metazoa: "an evolutionary link with fungi." Science, 260, 340-342.
187. Warham, E.J., Butler, L.D., Sutton, R.C. 1998. Ensayos para la Semilla de Maíz y Trigo: manual de laboratorio. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. CIMMYT. México. D. F. 84p.
188. Webster, J, Weber, R.W.S. 2009. Introduction to fungi. 3rd ed. Cambridge University press, New York.
189. Wellhausen, E.J., Roberts, L.M., Hernández X.E., en colaboración con Mangelsdorf, P.C. 1951. Razas de maíz en México. Su origen, caracterización y distribución. Oficina de Estudios Especiales. Secretaría de Agricultura y Ganadería Folleto Técnico Núm 5.
190. Wichmann, G., Herbarth, O., Lehmann, I. 2002. The mycotoxins citrinin, gliotoxin, and patulin affect interferon- γ rather than interleukin-4 production in human blood cells. Environ Toxicol., 17(3), 211-8.
191. Wilkes H.G. and Goodman, M.M. 1995. Mystery and missing links: The origin of maize. Maize Genetic Resources, Maize Program Special Report; Taba, S. (editor), México, DF, Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT).
192. Wilkes, H.G. 1977. Hibridization of maize and teosinte, in México and Guatemala and the improvement of maize. Economic Botany, 31, 254-293.
193. Winka, K., Yao, Y.J., Zhang, N. 2007. A higher level phylogenetic classification of the Fungi. Mycological Research, 111, 509-547.

194. Yaun, B.R., Summer, S.S., Eifert, J.D., and Marcy, J.E., 2004. Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *International Journal Food Microbiology*, 90, 1-8.
195. Ziegler, K.E. 2001. Popcorn. En: Hallauer, A.R., (Ed.), *Specialty corns*. 2a Ed., CRC Press, Boca Raton, FL, 199-234.

ANEXOS

ANEXO 1. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS

PDA - Agar Papa Dextrosa

En una balanza analítica se pesaron 18.5 g de PDA sintético de la marca DIBICO y colocaron en un matraz Erlenmeyer graduado con capacidad de 1000 ml, posteriormente se adicionaron 500 ml de agua destilada, los ingredientes se homogenizaron mediante movimientos circulares del matraz y por último se colocó en la boca del matraz una torunda cubierta con papel aluminio.

Una vez preparado el medio se esterilizó en la autoclave durante 20 minutos a 15 libras de presión y 121°C. Concluida la esterilización se procedió al vaciado del medio en cajas Petri desechables bajo condiciones estériles utilizando la Campana de Flujo Laminar marca VECO. Una vez concluido el vaciado las cajas Petri fueron dejadas en cuarentena durante 72 horas y concluido este periodo se mantuvieron en refrigeración hasta su uso.

PDAT - Agar Papa Dextrosa Tergitol

Este medio se preparó de igual forma que el PDA a excepción del vaciado en las cajas Petri. Previo al vaciado del medio, se adicionaron 150 microlitros de Tergitol por cada 500 ml de medio de cultivo. El Tergitol fue adicionado una vez que el medio se enfrió (40-50°C) y se realizó dentro de la campana de flujo laminar. Una vez concluido el vaciado se siguió el mismo procedimiento de cuarentena y refrigeración que en la preparación del medio anterior.

MSA - Agar Malta Sal

Este medio se preparó al 6% de cloruro de sodio, para lo cual por cada 500 ml de medio de cultivo, se pesaron en la balanza analítica 10 g de malta, 10 g de agar y 30 g de cloruro de sodio. Los ingredientes previamente pesados se colocaron en un matraz Erlenmeyer graduado con capacidad de 1000 ml y posteriormente en cada matraz se adicionaron 500 ml de agua destilada, se agitó en forma circular para homogenizar y se colocaron torundas de la misma forma que en los medios

anteriores. El procedimiento de esterilizado, vaciado, cuarentena y refrigeración fue igual al de la preparación del medio PDA.

CZ - Agar Czapek Dox

En una balanza analítica se pesaron 1.5 g de NaNO_3 , 0.5 g de K_2HPO_4 , 0.25 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.25 g de KCL, 0.005 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 15 g de sacarosa y 7.5 g de agar, todos los reactivos fueron colocados en un matraz Erlenmeyer graduado con capacidad de 1000 ml, posteriormente se adicionaron 500 ml de agua destilada, se agitó en forma circular para homogenizar y se tapó con una torunda cubierta con papel aluminio. Se esterilizó a 15 libras y 121°C por veinte minutos, se dejó enfriar el medio estéril y se procedió al vaciado del medio en cajas Petri desechables utilizando la Campana de Flujo Laminar marca VECO. Terminado el vaciado las cajas Petri fueron dejadas en cuarentena durante 72 horas y concluido este periodo se mantuvieron en refrigeración hasta su uso.

PCA - Agar Papa Zanahoria

Se pesaron en una balanza analítica 10 g de zanahoria y 10 g de papa, ambas desinfectadas sin cascara y en trozos finos, fueron colocadas en 500 ml de agua destilada hasta el hervor, posteriormente la mezcla fue filtrada empleando una gasa y recuperando el filtrado en un matraz Erlenmeyer graduado con capacidad de 1000 ml al que se le adicionaron 10 g de agar y se esterilizó en la autoclave durante 20 minutos a 15 libras de presión y 121°C . El vaciado del medio en cajas Petri y la cuarentena durante 72 horas se realizaron exactamente igual que con los otros medios de cultivo.

Agar V8

Mediante una probeta graduada se midieron 87.5 ml de jugo comercial V8 y se colocó en un matraz Erlenmeyer, posteriormente en la balanza analítica se pesaron 1.5 g de bicarbonato de calcio y 10 g de agar los cuales fueron adicionados al jugo V8 previamente medido, por último se adicionaron 500 ml de agua destilada y se esterilizó en autoclave a 15 libras y 121°C por 20 minutos. El

vaciado en cajas Petri y la cuarentena fueron realizadas de forma semejante a los demás medios de cultivo.

Czapek Concentrado - Identificación de Aspergillus

En una balanza analítica se pesaron los siguientes compuestos:

NaNO₃ 30g

KCl 5g

MgSO₄.7H₂O 5g

FeSO₄. 7H₂O 0.1g

ZnSO₄. 7H₂O 0.1g

CuSO₄. 7H₂O 0.05g

Una vez pesados fueron colocados en un frasco ámbar con tapa donde se agregaron 100 ml de agua destilada y se mezcló mediante movimientos circulares del frasco hasta homogenizar, se colocó la tapa y se recubrió el frasco con papel aluminio, se conservó en refrigeración hasta su uso.

CZ - Agar Czapek Dox

Se pesaron en una balanza analítica 0.5 g de K₂HPO₄, 15 g de sucrosa, 8.75 g de agar, se colocaron en un matraz Erlenmeyer graduado con capacidad de 1000 ml al que se adicionaron 5ml de Czapek concentrado (identificación de *Aspergillus*) y 500 ml de agua destilada se esterilizó en autoclave por 20 minutos a 15 libras y 121°C, el vaciado en cajas Petri y la cuarentena por 72 horas se realizó de la misma forma que en los otros medios.

CY20S - Agar Czapek Extracto de levadura con 20% de Sucrosa

Se pesaron en una balanza analítica 0.5 g de K₂HPO₄, 2.5 g de extracto de levadura en polvo, 100 g de sucrosa y 7.5 g de agar y fueron colocados en un matraz Erlenmeyer graduado con capacidad de 1000 ml, posteriormente se adicionaron 5 ml de Czapek concentrado (identificación de *Aspergillus*) y 500 ml de agua destilada, el medio fue esterilizado, vaciado en cajas Petri y puesto en cuarentena de la misma forma que los otros medios.

MEA - Agar Extracto de Malta

Fueron pesados en la balanza analítica 10 g de extracto de levadura en polvo, 10 g de glucosa, 0.5 g de peptona y 10 g de agar, posteriormente se colocaron dentro de un matraz Erlenmeyer graduado con capacidad de 1000 ml al que se adicionaron 500 ml de agua destilada, se homogenizó mediante movimientos circulares del matraz, se colocó una tapa de torunda cubierta con papel aluminio y se esterilizó por 20 minutos a 15 libras y 121°C. El procedimiento de vaciado y cuarentena se realizó de la misma forma que con los otros medios.

CYA25, CYA37 - Agar Czapek Extracto de Levadura

Se pesaron 0.5 g de K_2HPO_4 , 2.5 g de extracto de levadura en polvo, 15 g de sucrosa y 7.5 g de agar, fueron colocados en un matraz Erlenmeyer graduado con capacidad de 1000 ml al que se adicionaron 5 ml de Czapek concentrado (identificación de *Aspergillus*) y 500 ml de agua destilada, se esterilizó a 15 libras y 121°C por 20 minutos, se dejó enfriar y se realizó el vaciado en cajas Petri desechables en completa esterilidad usando la Campana de Flujo Laminar marca VECO, terminado el vaciado fueron puestas en cuarentena por 72 horas para después ser refrigeradas hasta su uso.

IPDA - Infusión de Papa Dextrosa Agar

Se pesaron en la balanza analítica 20 g de papa finamente picada y previamente lavada se colocaron en 500 ml de agua destilada hasta soltar el hervor, posteriormente la mezcla fue filtrada empleando una gasa y recuperando el filtrado en un matraz Erlenmeyer graduado con capacidad de 1000 ml al que se le adicionaron 10 g de agar y se esterilizó en la autoclave durante 20 minutos a 15 libras de presión y 121°C. El vaciado en cajas Petri y la cuarentena fueron realizados de la misma forma que los otros medios.

CLA - Agar Hojas de Clavel

Se lavaron y cortaron en trozos muy pequeños algunas hojas de clavel (*Dianthus caryophyllus*), las cuales se envolvieron en papel aluminio y se colocaron dentro

de un frasco de vidrio con tapa. A la par se pesó en la balanza analítica 10 g de agar y se colocaron en un matraz Erlenmeyer graduado con capacidad de 1000 ml al que se le adicionaron 500 ml de agua destilada, se tapó usando una torunda cubierta con papel aluminio y fue esterilizado junto con el frasco de hojas de clavel por 20 minutos a 15 libras y 121°C. El vaciado en cajas Petri se realizó en condiciones estériles dentro de la Campana de Flujo Laminar marca VECO, para lo cual se colocó el medio líquido estéril de agua-agar y con la ayuda de pinzas flameadas en mechero se colocaron de 4-5 trozos de clavel estéril en cada caja Petri. Al término del vaciado todas las cajas Petri permanecieron 72 horas en cuarentena dentro de la campana para su posterior refrigeración.

Czapek Concentrado - Identificación de Penicillium

En una balanza analítica se pesaron los siguientes compuestos:

NaNO ₃	30g
KCl	5g
MgSO ₄ .7H ₂ O	5g
FeSO ₄ . 7H ₂ O	0.1g

Una vez pesados fueron colocados en un frasco ámbar con tapa donde se agregaron 100 ml de agua destilada y se mezcló mediante movimientos circulares del frasco hasta homogenizar, se colocó la tapa y se recubrió el frasco con papel aluminio, se conservó en refrigeración hasta su uso.

EMA - Agar Extracto de Malta al 2%

Se pesaron en la balanza analítica 10 g de extracto de malta, 0.5 g de peptona, 10 g de glucosa y 7.5 g de agar que fueron colocados en un matraz Erlenmeyer graduado con capacidad de 1000 ml al que se le adicionaron 500 ml de agua destilada. Se esterilizó a 15 libras y 121 °C por 20 minutos, el procedimiento de vaciado se realizó en cajas Petri desechables utilizando la Campana de Flujo Laminar marca VECO, al término fueron dejadas en cuarentena por 72 horas para después ser refrigeradas hasta su uso.

G25N - Agar Nitrato con Glicerol al 25%

Fueron pesados en la balanza analítica 0.375 g de K_2HPO_4 , 1.85 g de extracto de levadura en polvo, 125 g de glicerol grado analítico, 6 g de agar, se colocaron en un matraz Erlenmeyer graduado con capacidad de 1000 ml al que se le adicionaron 3.75 ml de Czapek concentrado (*Identificación de Penicillium*) y 500 ml de agua destilada. Se esterilizó y vació en cajas Petri siguiendo el mismo procedimiento del medio anterior, así mismo la cuarentena y refrigeración.

YES - Agar Extracto de Levadura Sacarosa

Se pesaron en la balanza analítica 10 g de extracto de levadura en polvo, 125 gr de sacarosa y 10 gr de agar que fueron colocados en un matraz Erlenmeyer graduado con capacidad de 1000 ml adicionando 500 ml de agua destilada. La esterilización, el vaciado en cajas Petri se realizaron de la misma forma que el medio anterior.

CZ - Agar Czapek Dox

Se pesaron en una balanza analítica 0.5 g de K_2HPO_4 , 15 g de sucrosa, 8.75 g de agar, se colocaron en un matraz Erlenmeyer graduado con capacidad de 1000 ml al que se adicionaron 5ml de Czapek concentrado (identificación de *Penicillium*) y 500 ml de agua destilada se esterilizó en autoclave por 20 minutos a 15 libras y 121°C, el vaciado en cajas Petri y la cuarentena por 72 horas se realizó de la misma forma que en los otros medios.

CYA5, CYA25, CYA37 - Agar Extracto de Levadura

Se pesaron 0.5 g de K_2HPO_4 , 2.5 g de extracto de levadura en polvo, 15 g de sucrosa y 7.5 g de agar que se colocaron en un matraz Erlenmeyer graduado con capacidad de 1000 ml al que se adicionaron 5 ml de Czapek concentrado (identificación de *Penicillium*) y 500 ml de agua destilada, se esterilizó a 15 libras y 121°C por 20 minutos, se dejó enfriar y se realizó el vaciado en cajas Petri desechables en completa esterilidad usando la Campana de Flujo Laminar marca

VECO, terminado el vaciado fueron puestas en cuarentena por 72 horas para después ser refrigeradas hasta su uso.

Tinción Azul de Lactofenol

Se midieron con una probeta graduada 5 ml de fenol, 10 ml de glicerol, 5 ml de ácido láctico y fueron colocados dentro de un frasco ámbar con gotero al que se adicionaron 0.0125 g de azul de algodón pesados previamente en la balanza analítica. La mezcla se homogenizó mediante movimientos circulares del frasco tapado, una vez listo se guardaron en oscuridad y a temperatura ambiente hasta su uso.

PVA - Tinción Permanente Alcohol Polivinílico

Se pesaron en una balanza analítica 3.75 g de alcohol polivinílico y 0.025 de azul de anilina y fueron colocados dentro de un frasco ámbar con gotero al que se adicionaron 25 ml de agua, 9.75 ml de ácido láctico y 9.75 ml de fenol previamente medidos con una probeta graduada. La mezcla se homogenizó mediante movimientos circulares del frasco tapado, una vez listo se guardaron en oscuridad y a temperatura ambiente hasta su uso.

ANEXO 2. FICHAS DE REGISTRO E IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

Formato N° 1. Registro de micobiota.

MICROBIOTA DE _____

MUESTRA O PROYECTO _____

MEDIO DE CULTIVO _____

FECHA _____

MUESTRA	N° Caja	MICROBIOTA					

Formato N° 2. Hoja de datos para la identificación del género *Alternaria*.

Fecha _____

HOJA DE DATOS PARA IDENTIFICAR EL GENERO *Alternaria* según Simmons, 2007

Características macroscópicas

ID N°	MEDIO DE CULTIVO	DIAMETRO DE COLONIA	N° DE ANILLOS	COLOR DE COLONIA	COLOR DE CONIDIOS	FORMA DE CADENAS	OBSERVACIONES

Características microscópicas

ID N°	CONIDIOS				CUERPO		PICO	
	FORMA	ORNAMENTACIÓN	# DE SEPTOS		LONGITUD	ANCHO	LONGITUD	BASE
			TRANSVERSALES	LONGITUDINALES				

Formato N° 3. Hoja de datos para la identificación de los géneros *Aspergillus* y *Eurotium*.



Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS)
 Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FESC)
 Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)
 Laboratorio de Micología

Características macroscópicas Claves Maren A. Klich

	CYA25	MEA	CYA37	CY20S	CZ
Diámetro					
Color					
Conidos					
Micelio					
Exudados					
Reverso de la caja					
Pigmentos solubles					
Cleistotecios/esclerocios					

Fecha _____

Características microscópicas Claves Maren A. Klich

Estípite	Longitud	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	Ancho	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	Textura superficie	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Vesícula	Diámetro	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	Forma	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Seriación	Uniseriada	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	Biseriada	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Conidios	Longitud	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	Forma	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	Textura superficie	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Cleistotecios/ Esclerocios	Diámetro	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	Forma	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	Color	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	Células en superficie - hifas/parénquima	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Ascosporas	Días de maduración	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	Longitud	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	Ancho	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	Textura superficie	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	Surcos/Borde	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____

Table 12-1. *Fusarium* culture identification checklist.

ID no.	Macroconidia				Microconidia			Chlamydo- spores	Colony Color	Comments	Species
	Size	Shape	Apical	Foot	Size	Shape	Phialide				

Formato N° 5. Hoja de datos para la identificación de los géneros *Penicillium* y *Paecilomyces*.



UNIGRAS, FESC, UNAM. LABORATORIO DE MICOLOGÍA FECHA: _____

HOJA DE DATOS PARA IDENTIFICAR EL GÉNERO *Penicillium*, DE ACUERDO A JOHN I. PITT, 1979.

CYA: 0 4 8 12 15 20 25 30 35 40 50 60 + mm diámetro;
 Bajo medio profundo; escaso medio denso; plano sulcado convoluto
 velutinoso flocoso funiculoso fasciculado coremiforme sinematoso
 micelio: conidios: exudados: pigmentos sol.: reverso:

MEA: 4 8 12 15 20 25 30 35 40 45 50 60 + mm diámetro;
 Bajo medio profundo; escaso medio denso; plano sulcado convoluto
 velutinoso flocoso funiculoso fasciculado coremiforme sinematoso
 micelio: conidios: exudados: pigmentos sol.: reverso:

G25N: 0 MC 3 5 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 mm diámetro;
 plano sulcado convoluto; velutinoso flocoso funiculoso fasciculado coremiforme sinematoso
 micelio: conidios: exudados: pigmentos sol.: reverso:

5°C: 0 G MC 1 2 3 4 6 mm diámetro

37°C: 0 4 7 10 15 20 25 30 35 40 50 60 + mm diámetro;
 micelio: exudados: pigmentos sol.: reverso: velutinoso flocoso funiculoso fasciculado;

CONIDIÓFOROS: subterráneo superficial aéreo funiculado fascículo coremia sinema

ESTÍPITES: longitud: 7 10 15 20 30 40 60 100 150 200 400 + μm; Paredes: lisos ligeras moderadas rugosas tuberculadas

PENICILLI: monoverticilado: vesiculado μm; no vesiculado;
 Biverticilado: Furcado: Irregular terminal; Biverticilado: ápices 8 10 12 14 μm;
 Terverticilado: quaterverticilado:

RAMA: No.: 1 2 3 +; longitud: 10 15 20 25 30 40 μm; lisos rugosos; terminal subterminal; divergente appressed

MÉTULAS: No.: 2 3 4 5 8 +; longitud: 7 10 12 15 18 20 25 30 40 μm;
 lisos rugosos; espatulado vesiculado no vesiculado; divergente appressed

FIÁLIDES: ampuliformes acerosa cilíndrica; No.: 1-4 5-8 10+;
 6 7 8 10 12 15 20 μm; longitud: collula: corta larga truncada fusiforme

CONIDIOS: esféricos subesféricos elípticos cilíndricos otros; cadenas: desordenadas en columnas
 Longitud: 2 2.5 3 3.5 4 4.5 5 6 7 μm; lisos rugosos espinosos estriados

ASCOCARPOS: cleisto. gymno.; escaso abundante; CYA MEA; mat.; 1 2 3 4 + semanas
 50 75 100 150 200 250 300 400 500 μm de longitud; color:

ASCAS: cadenas simples: 6 8 10 12 15 18 20 x 6 8 10 12 15 18 20 μm

ASCOSPORAS: esferoidales subesferoidales elipsoidales; 2 2.5 3 3.5 4 5 6 7 10 μm de longitud;
 lisas rugosas espinosas estriadas con borde: 2 4; color:

Formato N° 6. Determinación del contenido de humedad.

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD POR EL MÉTODO DE SECADO

MUESTRA _____

PROYECTO _____ FECHA _____

MUESTRA	CAJA Nº	W CAJA	W C+SH	W C+SS	W GRANO	AGUA	C.H. GRANO	X

ANEXO 3. DISPOSICIÓN FINAL DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Conservación de hongos microscópicos

Todas las cepas aisladas fueron purificadas mediante una resiembra en CZ para los géneros *Aspergillus* y *Eurotium* y PDA para el resto, las cuales fueron incubadas a 25 °C por 8 días, una vez concluido el periodo de incubación fueron llevados a cabo 4 tipos de almacenamiento según Mier *et al.* (2002) para todas las cepas que se describen a continuación:

- Almacenamiento en aceite mineral. Se preparó Sabouraud dextrosa agar inclinado (30° de la horizontal) en tubos de 30 ml con tapón de rosca. Se inocularon los tubos con los hongos, se etiquetaron con los datos de cada hongo y la fecha de almacenamiento y se incubaron hasta que las colonias maduraran. Se esterilizó aceite mineral (parafina líquida, gravedad específica 0.830- 0.890) dos veces a 15 libras y 121°C durante 15 minutos. Cada cultivo dentro de los tubos fue cubierto con el aceite mineral estéril aproximadamente 10 mm por arriba del nivel del agar. Fueron almacenados sin presionar demasiado el tapón de rosca, en gradillas y a temperatura ambiente (Figura 53).



Figura 53. Almacenamiento de la micobiota natural de muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana en aceite mineral.

- Almacenamiento en agua destilada. Se prepararon tubos de 30 ml con tapón de rosca conteniendo 10 ml de agua destilada estéril, se cortaron de 2-3 bloques de agar de aproximadamente 5 mm de la orilla de crecimiento cada colonia fúngica y se colocaron dentro de estos tubos, se etiquetaron, se taparon y se cubrieron con aluminio (Figura 54).



Figura 54. Almacenamiento de la micobiota natural de muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana en agua destilada.

- Almacenamiento en gel de sílice. Se esterilizó en horno viales de 15x50 mm con tapón de rosca sin apretar, conteniendo cristales de sílice en las 2/3 partes de su volumen, a 180°C durante 1 hora. Al término de la esterilización los tapones se apretaron para evitar absorción de humedad. A parte se pasteurizaron tubos de ensaye conteniendo una dilución de 3 ml de leche descremada en Polvo Sveltes Nestlé al 7% en agua destilada durante 13 minutos a 121°C con los tapones flojos. Después de la pasteurización, se apretaron los tapones y se almacenaron los tubos en el refrigerador. Posteriormente se preparó una suspensión de cada hongo en el tubo de leche pasteurizada, se agitó en Vórtex durante 20 segundos hasta homogenizar. Los viales con sílice fueron colocados en un recipiente con hielo dentro de la Campana de Flujo Laminar marca VECO para

realizar la siembra para la cual fueron colocados 0.7 ml de la suspensión del hongo en la leche y se distribuyó de manera uniforme, se apretó el tapón y se sacó el vial del hielo para agitar en Vórtex durante 5 segundos, se realizó lo mismo con todas las cepas y posteriormente se mantuvieron los tubos en un desecador al vacío con los tapones flojos durante una semana. Al término de este periodo se almacenaron en un recipiente de plástico dentro del refrigerador con los tubos bien tapados y sellados con parafilm (Figura 55).



Figura 55. Almacenamiento de la micobiota natural de muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana en gel de sílice.

- Almacenamiento en tierra estéril. Se esterilizaron a 15 libras y 121°C durante 20 minutos viales 20 ml tapón de rosca conteniendo en 1/3 parte de su volumen tierra negra. Una vez estériles y a temperatura ambiente se sembró con aguja un pedazo de aproximadamente 5 mm² de la colonia pura de la cepa, se etiquetaron y se almacenaron en una gradilla.

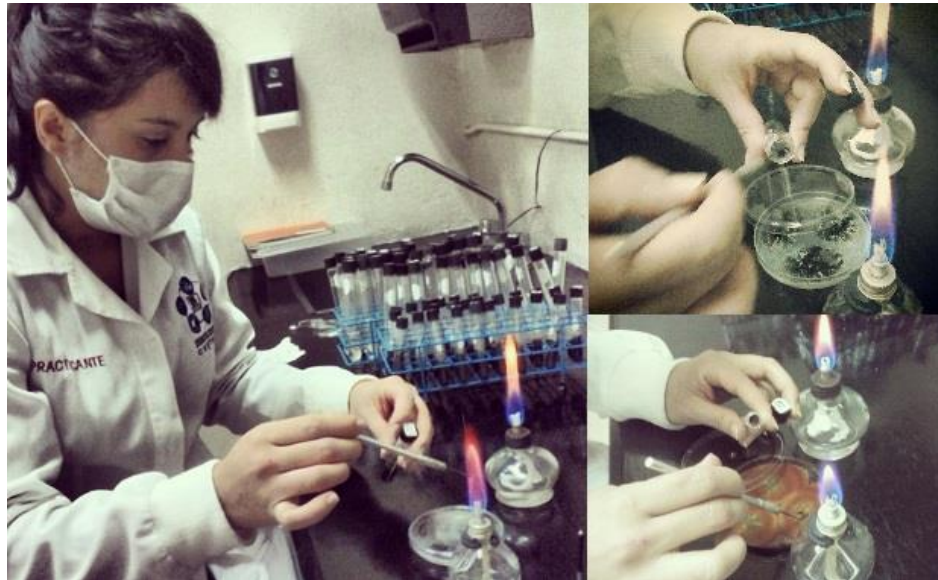


Figura 56. Almacenamiento de la micobiota natural de muestras de maíz palomero colectado en 2012 en D.F. y Área Metropolitana en tierra estéril.

Protocolo de disposición final

El material biológico generado durante todas las pruebas de este trabajo fue colocado dentro de bolsas de polipapel que fueron selladas para ser esterilizadas en autoclave durante 20 minutos a 15 libras y 121°C y posteriormente desechados siguiendo los protocolos de seguridad del laboratorio para asegurar la no contaminación biológica (Figura 57).



Figura 57. Disposición final del material biológico.