



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

“Detección de fumonisinas producidas por especies de *Fusarium*
en granos de avena (*Avena sativa*) y productos.”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

SAMUEL ROBERTO ALVAREZ LÓPEZ

ASESOR: DR. JOSE FRANCISCO MONTIEL SOSA
COASESOR: M. EN M. JOSEFINA MORENO LARA

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO A NOVIEMBRE DEL 2017.



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.

A mi familia.

Agradecimientos

A mi madre, que siempre ha entregado todo por lograr cada objetivo para con sus hijos. A mi padre, que nunca nos abandona y siempre contamos con su escalón para seguir. A mis hermanos que sobre todo, más que mi apoyo son mi motor para seguir creciendo y dando lo mejor de mí.

Al doctor Francisco Montiel, gran amigo y excelente maestro. A mi coasesora Josefina Moreno que me ha brindado su apoyo durante la elaboración de este trabajo, a la doctora Martha Quezada por su ayuda para la realización del análisis estadístico en resultados y apoyo experimental. A todos mis profesores que debido a su trabajo, han sembrado diferentes enseñanzas, formas y valores para poder ejercer un desempeño laboral eficiente, con ética y moral.

Agradezco a mis amigos infinitamente que gracias a ellos mi estancia en la Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán, ha sido enriquecedora y llena de experiencias fructíferas en la que llamo mi segunda casa, mi universidad que me ha dado todo.

INDICE

Contenido

Resumen.....	8
Introducción	9
Capítulo 1. Antecedentes	11
1.1. Generalidades de la avena	12
1.2. Composición química.	14
1.3. Producción nacional y producción anual.	15
1.3.1. Volúmenes de producción	16
1.4. Variedades de avena	18
1.4.1. Karma	18
1.4.2. Turquesa.....	18
1.4.3. Chihuahua	18
1.5. Enfermedades de la avena	19
1.5.1. Hongos endófitos	19
1.6. Utilización de la avena en diferentes productos alimenticios	20
1.6.1. Cereales calientes.....	20
1.6.2. Cereales instantáneos.	20
1.6.3. Productos panaderos de avena.....	21
1.6.4. Galletas.....	21
1.7. Manejo de los productos elaborados y su almacenamiento	21
2.0. Hongos de campo y almacén	23
2.1. Condiciones que permiten la invasión de hongos en los granos almacenados	24
2.1.1. Contenido de humedad.....	24
2.1.2. Temperatura.....	24
2.1.3. Tiempo de almacenamiento	25
2.1.4. Condición del grano	25
2.1.5. Infestación de insectos.....	25
2.2. Medios de crecimiento.....	25
2.2.1. Malta sal en agar (MSA)	26

2.2.2. Agar Papa Dextrosa (PDA)	26
2.3. Género <i>Fusarium</i>	27
2.3.1. Morfología	28
2.4. <i>Fusarium verticillioides</i>	29
2.4.1. Taxonomía	30
2.4.2. Fisiología	30
2.4.3. Morfología	31
2.5. <i>Fusarium proliferatum</i>	31
2.5.1. Taxonomía	32
2.5.2. Fisiología	33
2.6. Micotoxinas	33
2.6.1. Fumonisinias	36
2.6.1.1. Metabolismo	36
2.6.1.2. Efecto tóxico	37
2.6.1.3. Control y análisis	39
2.7 Regulaciones	40
2.8 Prevención y eliminación	41
2.9. Desarrollo de cultivos resistentes	42
2.9.1. Reducción de niveles en hongos toxigénicos	42
2.9.2. Prevención del crecimiento fúngico	42
Capítulo 2. Metodología experimental	44
3.1. Objetivos	45
Objetivo general	45
Objetivo particular 1	45
Objetivo particular 2	45
Objetivo particular 3	45
3.3. Cuadro metodológico	46
3.4. Materiales y Métodos	47
3.4.1. Material Biológico	47
3.4.2. Muestras comerciales	47
3.4.3. Detección de fumonisinias	48
3.4.3.1. Extracción de la muestra	49

3.4.3.2. Dilución del extracto	49
3.4.3.3. Columnas de anticuerpos.....	50
3.4.4. Preparación de medios de cultivo	51
3.4.5. Determinación de micobiota.....	51
3.4.6. Cultivo de hongos pertenecientes al género <i>Fusarium spp.</i>	52
3.4.8. Micromorfología para los aislados de <i>Fusarium.</i>	53
Capítulo 3. Resultados y discusión	55
4.1. Detección de fumonisinas en productos comerciales	56
4.2. Contaminación presente de fumonisinas en granos de avena.	58
4.3. Detección de micobiota	60
Conclusiones	76
Perspectivas	77
Glosario	78
Referencias Bibliográficas	80

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Panícula de avena con disposición unilateral de los ejes secundarios (<i>Wirsema, 2016</i>).	13
Figura 2.	Cariópside de avena y sus estructuras (<i>Wirsema, 2016</i>)	14
Figura 3.	Principales países productores de avena (<i>FAO, 2009</i>)	15
Figura 4.	Producción anual de avena en México (<i>SAGARPA, 2016</i>)	16
Figura 5.	<i>Fusarium Oxisporum</i> . 1-3 – Macroconidios; 4 - 7 – Clamidosporas producidas individualmente, en pares, cadenas cortas y grumos (<i>Burguess, 2016</i>).	29
Figura 6.	<i>Fusarium verticillioides</i> (a) colonias en PDA y DCPDA, 7d, 25°C; (b) fiálides sorportando cadenas de microconidios, barra= 50 µm; (c) fiálides, barra= 10 µm; (d) macro y microconidios, barra=10 µm (<i>Pitt y Hocking, 2009</i>)	31
Figura 7.	<i>Fusarium proliferatum</i> (a) colonias en PDA y DCPA, 7 d, 25 °C; (b) Fiálides soportando microconidios en cadenas y cabezas falsas in situ, bar= 50 µm; (c) macroconidios y microconidios, barr= 10 µm; (d) polifiálides, barra= 10 µm; (e) monofiálides, barra= 10 µm (<i>Pitt y Hocking, 2009</i>).	32
Figura 8.	Estructura química de la fumonisina y los esfingolípidos (<i>Torres y López, 2010</i>).	38
Figura 9.	Molienda de la muestra.	49
Figura 10.	Extracción.	49
Figura 11.	Tratamiento de columnas con anticuerpos monoclonales	50
Figura 12.	Secado de granos estériles (<i>Propia autoría, 2016</i>)	52
Figura 13.	Secado de granos estériles (<i>Propia autoría, 2016</i>)	52
Figura 14.	Resiembra de granos de avena (<i>Propia autoría, 2016</i>)	52
Figura 15.	Aislamiento de <i>Fusarium</i> en medio PDA cultivado durante 7 días; T 25°C; con presencia de luz (<i>Propia autoría, 2016</i>).	53
Figura 16.	Microcultivo de PDA inoculado con <i>Fusarium</i> , técnica de Ridell (<i>Propia autoría, 2016</i>).	53
Figura 17.	Género <i>Fusarium</i> a) Micelio del hongo con hifas apreciables (x10), b) Conidióforo con conidios como estructura de reproducción (x40) (<i>Propia autoría, 2016</i>).	54
Figura 18.	Determinación de fumonisinas en productos comerciales expresado en concentración (µg/Kg).	57
Figura 19.	Detección de fumonisinas en grano de avena expresado en concentración.	59
Figura 20.	Porcentaje general de la microbiota para grano entero de avena	60
Figura 21.	Micobiota medio MSA en grano de avena con presencia del género: (A) <i>Fusarium</i> (<i>Propia autoría, 2016</i>).	63
Figura 22.	Micobiota medio MSA en grano de avena con presencia del género: (B) <i>Aspergillus secc. nigri</i> ; (C) <i>Alternaria</i> (<i>Propia autoría, 2016</i>).	63

Figura 23.	Micobiota medio MSA en grano de avena con presencia del género: (A) <i>Fusarium</i> ; (B) <i>Aspergillus sección nigri</i> (<i>Propia autoría, 2016</i>).	63
Figura 24.	Género <i>Eurotium</i> presente en el grano de avena con sus cleistotecios como parte de su reproducción sexual (<i>Propia autoría, 2016</i>).	64
Figura 25.	Hojuelas de trigo y avena con presencia de Levaduras y <i>Rizhopus</i> (<i>Propia autoría, 2016</i>).	68
Figura 26.	Género <i>Rizhopus</i> encontrado en la micobiota de productos de avena (<i>Propia autoría, 2016</i>).	68
Figura 24.	Presencia de <i>Aspergillus ochraceus</i> y Levaduras en muestras de avena instantánea en medio de cultivo MSA (<i>Propia autoría, 2016</i>).	72

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Clasificación taxonómica de la avena.	12
Cuadro 2.	Composición química de la avena.	14
Cuadro 3.	Clasificación descendente de municipios según los volúmenes de producción de Avena Primavera-Verano obtenidos durante el quinquenio 2004-2008.	17
Cuadro 4.	Clasificación descendente de municipios según los volúmenes de producción de Avena Otoño-Invierno obtenidos durante el quinquenio 2004-2008.	17
Cuadro 5.	Productos comerciales empleados para los análisis.	47
Cuadro 6.	Micobiota presente en granos de avena en medio de cultivo PDA.	61
Cuadro 7.	Micobiota presente en granos de avena en medio de cultivo MSA.	62
Cuadro 8.	Micobiota en hojuelas de avena en medio de cultivo PDA.	65
Cuadro 9.	Micobiota en avena instantánea en medio de cultivo PDA.	66
Cuadro 10.	Micobiota en cereal de trigo y avena en medio de cultivo PDA.	67
Cuadro 11.	Micobiota en cereal infantil en medio de cultivo PDA.	69
Cuadro 12.	Micobiota en galletas de avena en medio de cultivo PDA.	69
Cuadro 13.	Micobiota en avena de granola en medio de cultivo PDA.	70
Cuadro 14.	Micobiota para hojuelas de avena en medio de cultivo MSA.	71
Cuadro 15.	Micobiota en avena instantánea en medio de cultivo MSA.	72
Cuadro 16.	Micobiota en cereal de trigo y avena en medio de cultivo MSA.	73
Cuadro 17.	Micobiota en cereal de avena infantil en medio de cultivo MSA.	74
Cuadro 18.	Micobiota en galletas de avena en medio de cultivo MSA.	74
Cuadro 19.	Micobiota a avena de granola en medio de cultivo MSA.	75

Resumen

La avena es un grano básico de consumo humano, por ello el objetivo primordial de esta investigación es evaluar la micobiota presente en granos de avena y productos derivados de esta materia prima para determinar su calidad sanitaria. Se emplearon medios de cultivo específicos para la detección de la micobiota presente en la avena y productos, identificando así la presencia de hongos de campo y hongos de almacén, además se realizó un análisis de la cantidad de fumonisinas presentes por medio de la técnica preestablecida por *Vicam Fumonitest*[®] utilizando columnas de inmovilización que determinan su concentración. Las pruebas se realizaron por triplicado para cada una de las variedades de grano y para cada producto comercial distinto empleando un análisis de varianza de una vía para su análisis estadístico. Finalmente se obtuvo que la variedad Turquesa en grano, presentó los valores más altos en concentración de fumonisinas en comparación con la variedad Chihuahua dadas sus concentraciones de esta micotoxina, en cambio para los productos comerciales las medias más altas se registraron para avena instantáneas con frutos rojos y avena instantánea sabor fresas con crema. El género del hongo *Fusarium* estuvo presente en los tres ciclos de cultivo para la variedad Turquesa, así como diversos géneros que formaron parte de su micobiota endógena. En los productos se encontraron otras especies de hongos que se han reportado también como productoras de fumonisinas. Para concluir, las fumonisinas se presentaron en todos los productos comerciales y sólo en dos variedades del grano. Los valores del grano tanto como de los productos comerciales, comparados con los límites permitidos por la unión europea, se encuentran dentro del límite establecido a excepción de dos cereales instantáneos para desayuno, lo cual exige mayor rigor en la elaboración de estos productos para el consumo mexicano. Este estudio se realizó en el periodo de Enero a Agosto del año 2016 en el municipio de Cuautitlán Izcalli del Estado de México.

Introducción

La avena en México ha sido uno de los productos mayormente consumidos desde los inicios de nuestra era y se producen en promedio 6.2 millones de toneladas anualmente donde gran porcentaje se destina al consumo humano, además de que es un alimento esencial para la elaboración de una gran cantidad de productos y subproductos derivados. Se sabe que dentro de los beneficios de este cereal se encuentra la prevención de enfermedades cardiacas, cardiovasculares, regula niveles de glucosa, así también reduce cantidades significativas de colesterol indeseado en el cuerpo humano, además es un excelente sustituto de fibra para personas que llevan una dieta libre de gluten. El cultivo de avena ocupa el quinto lugar en la producción mundial de cereales. En México, durante el año 2016, las cantidades de este grano sembrado superaron a las del maíz, en esencia, su consumo y la demanda ha ido en aumento por la versatilidad de su producción y empleo.

El crecimiento fúngico en los productos alimenticios transportados y almacenados es un problema que se ha venido sucintando desde hace mucho tiempo, la avena puede contaminarse con hongos durante el cultivo, en la recolección, transporte o almacenamiento y su existencia puede resultar en el deterioro o la producción de micotoxinas representando una de las más importantes categorías dentro de la producción biológica natural de toxinas con efectos en la salud. Las micotoxinas no se biotransforman fácilmente en el cuerpo de los animales y son acumulativas, por los que también pueden poner en peligro la salud de los consumidores por su presencia en los alimentos de origen animal (leche, carne, mantequilla, queso, huevo). Las fumonisinas son el grupo de micotoxinas producidas principalmente por *Fusarium verticillioides* y por *Fusarium proliferatum*, cuyas especies de este complejo son comunes en maíz, sorgo, azúcar de caña, arroz y avena así también otras especies del género las pueden producir. Estas micotoxinas son posibles responsables de altos índices de cáncer en esófago para humanos así como defectos congénitos del tubo neural, leucoencefalomalacia equina y edemas pulmonares en cerdos. Hoy en día la ocurrencia de micotoxinas en los alimentos

pone en peligro la salud pública por lo que se han establecido límites normativos para algunos tipos de micotoxinas, en cambio para determinadas micotoxinas de origen natural, se carece de normatividad, dictámenes y leyes que hagan cumplir a un alimento como seguro, económico, de buena calidad, vasto y abundante. En el presente trabajo de investigación se busca elucidar un panorama general a cerca de la posible repercusión del consumo de fumonisinas en México, representado en una dieta constituida principalmente por la avena como materia prima, estableciendo comparativas en la concentración de esta toxina y la presencia de hongos productores de fumonisinas para en el grano y diferentes grupos alimenticios, pan, cereales, cereales instantáneos, galletas. Realizando estudios de avance tecnológico se permitirá identificar el riesgo ante la presencia de micotoxinas que se pueden encontrar en productos consumidos en México que carecen de regulaciones y cuyo origen es nacional e internacional.

Capítulo 1. Antecedentes

“No hables si lo que vas a decir no es más hermoso que el silencio.”

Proverbio árabe.

1.1. Generalidades de la avena

La avena (*Avena Sativa*) ocupa un lugar importante en la producción mundial de cereales, siendo muy representativa en climas fríos del hemisferio norte. El grano suele ser utilizado como alimento humano, avena machacada y harina, así como animal, aunque también es aprovechada la planta como forraje o en pastoreo (Arendt, 2013).

Son una buena fuente de fibra soluble, los aminoácidos esenciales, ácidos grasos insaturados (oleico, linoleico y linolénico), vitaminas (B1), minerales (fósforo y hierro) y fitoquímicos (avenantramidas). Los efectos en la salud de la avena se han atribuido principalmente a la fracción de β -glucano de alta viscosidad, que tiene la capacidad de disminuir el colesterol en sangre y la absorción intestinal de la glucosa (Arendt, 2013).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la avena.

Nombre Común	Avena
Orden	Glumiflora
Nombre científico	<i>Avena sativa L.</i>
Familia	Graminaceae
Clase	Angiosperma
Género	Avena
Subclase	Monocotyledonae
Especie	<i>Sativa L.</i>

*(Wirsema, 2016).

Espiguillas de 21-30 mm. Con dos flores desiguales no articuladas con la raquilla. Glumas de 20-30 mm, subiguales. Lema de la flor inferior de 15-20 mm. Bidentada, generalmente aristada, glabra o con varios pelos junto a la arista o en la base. Arista de 25-40 mm, geniculada o flexuosa, a veces sin arista. Lodículas con un diente lateral. Anteras de 3-3,5 mm (Romero, 1995).

La avena cultivada más antigua que se conoce se ubica en Europa, encontrada en viviendas lacustres de diferentes lugares de Europa central, datada en la edad de bronce, y parece ser ya de la familia *sativa*. Se han conocido dos variedades de avena, la negra y la rubia, también conocida esta última como blanca o del país (Zwer, 2016).

La inflorescencia de la planta de avena es una panícula o panoja abierta, suelta y de tipo compuesta; presenta un eje vertical o raquis central frágil, y ejes o raquis secundarios que corresponden a ramas provenientes del eje principal (*Figura 1*) (Zwer, 2016).

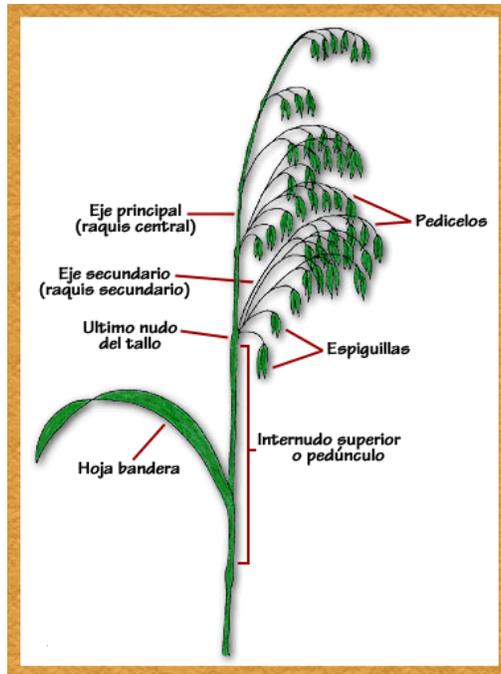


Figura 1. Panícula de avena con disposición unilateral de los ejes secundarios (Wirsema, 2016).

Las espiguillas, que son colgantes, se producen en los ejes secundarios, presentándose unidas a éstos por medio de un pedicelo. El número de espiguillas por panícula, es muy variable y depende principalmente del cultivar, pudiéndose encontrar entre 20 y 150 espiguillas por panícula (Zwer, 2016).

Cada semilla está contenida en un fruto llamado cariósipide, el cual exteriormente presenta una estructura denominada pericarpio; éste corresponde a la fusión de las paredes del ovario y se presenta unido a la testa de la semilla. Esta última está conformada internamente por el endospermo y el embrión, el cual a su vez está constituido por la coleorriza, la radícula, la plúmula u hojas embrionarias, el cleotipo y el esculeto o cotiledón (Ver figura 2)(Zwer, 2016).

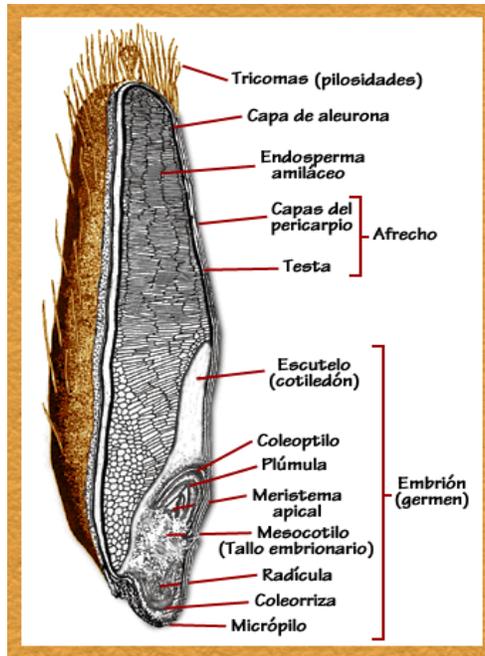


Figura 2. Cariósido de avena y sus estructuras (Wirsema, 2016).

1.2. Composición química.

Las características de calidad cuando se desarrolla un nuevo cultivo para la molinera y la industria alimentaria alientan al consumo saludable. Los agricultores han respondido a las necesidades de tales mercados por la selección de una composición nutricional deseada, especialmente altos β -glucanos, alta fibra dietaria total y bajo contenido en grasas. Los mayores contenidos de avena incluyen carbohidratos (almidón y fibra), proteína y lípidos (Cuadro 2). El contenido y las características de estos componentes, representan atributos de calidad para los molinos, procesadores de alimentos y consumidores. (Hüttner, 2013)

Cuadro 2. Composición química de la avena.

	% como base	
	Harina de avena de grano completo	Salvado de avena
Proteína	10 - 17	13 - 24
Almidón y azúcares	56 - 62	10 - 50
Grasas	4 - 9	5 - 14
Fibra dietaria total	11 - 17	15 - 32
β -Glucano	2 - 7	6 - 20

*(Hüttner, 2013)

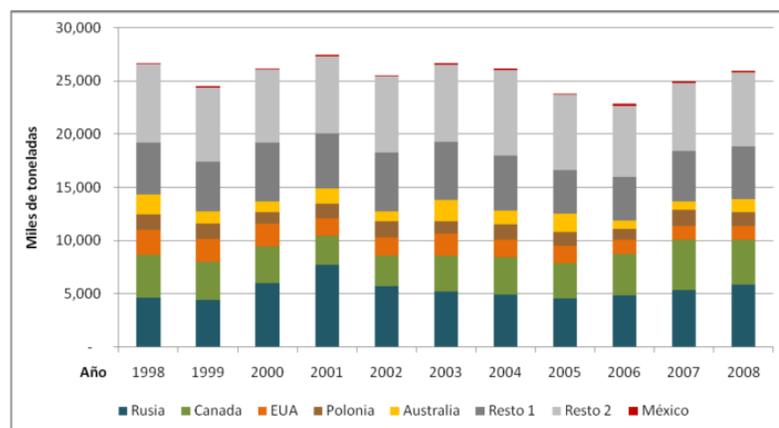
1.3. Producción nacional y producción anual.

La producción global de avena fue en el 2004 de 23.7 Millones de toneladas (Mtm), de las cuales el consumo fue de 23.2 millones de toneladas (97.7 % de la producción), el comercio internacional alcanzó los 2.0 Mtm (8.5 % de la producción), y el stock de 3.0 Mtm (12.6 % de la producción (Sabate, 2013).

Según los datos más recientes de la FAO (correspondientes al año 2012) en cuanto a producción de cereales, la avena es el séptimo cereal más cosechado a nivel mundial con 21.06 Mtm, y el detalle de los mayores productores son: Rusia (4Mtm), Canadá (2.7 Mtm), Polonia (1.5 Mtm), Austria (1.3 Mtm) y Finlandia (1.1 Mtm) (Sabate, 2013).

- a) Máximos productores: European Union (EU), Rusia, Canadá, Australia y EE.UU.
- b) Máximos consumidores: European Union (EU), Rusia, EE.UU., Canadá y Australia.
- c) Máximos exportadores: Canadá, UE, Australia, Chile y EE.UU.
- d) Máximos importadores: EE.UU., México, China, Japón y Suiza (Sabate, 2013).

La participación de México en la producción mundial de avena representan sólo el 0.4% del volumen total y 0.5% de la superficie cosechada, cifras que lo colocaron en los lugares 28 y 23 a nivel nacional, así mismo, los rendimientos promedio obtenidos en el país (1.6 ton/ha) estuvieron por debajo del promedio mundial, ubicándolo en el 42° lugar. Sin embargo, cabe destacar que a diferencia de la tendencia mundial México incrementó su volumen de producción de avena a una tasa media anual de crecimiento de 4.7% (Figura 3) (SAGARPA, 2008).



Fuente: Elaboración propia con base en información de FAOSTAT | © FAO Statistics Division 2009

Figura 3. Principales países productores de avena (FAO, 2009).

En 2012, el área sembrada con avena (*Avena sativa* L.) en México fue superior a 900.000 ha (SAGARPA, 2013) (Figura 4) distribuidas en todas las zonas agrícolas de la República Mexicana debido a su amplio rango de adaptación a las condiciones ambientales, además de considerarse como un cultivo alternativo en los Valles Altos y en la región semiárida del norte-centro. Es importante señalar que el cultivo de avena se siembra particularmente cuando el inicio del período de lluvias se retrasa o se presentan bajas temperaturas que ponen en riesgo la siembra de los cultivos tradicionales como maíz (*Zea mays* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.).

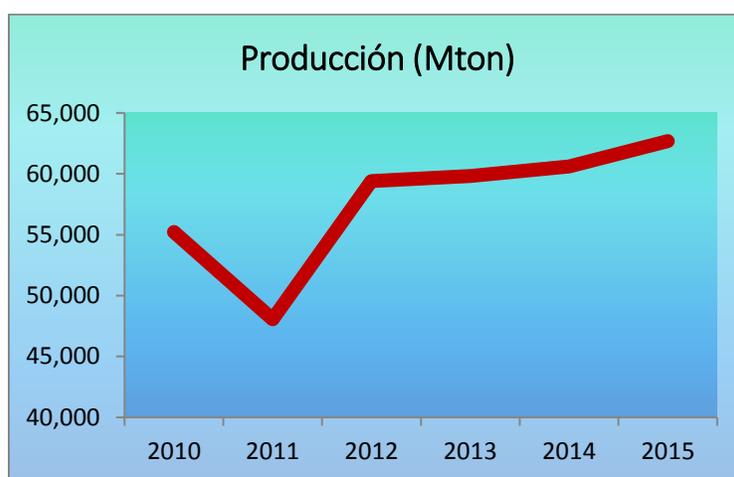


Figura 4. Producción anual de avena en México (SAGARPA, 2016).

1.3.1. Volúmenes de producción

Durante el ciclo Primavera-Verano 2008 en México se sembraron 98,295 hectáreas de avena, en las cuales se obtuvieron 126 mil toneladas, con un rendimiento promedio nacional de 1.34 ton/ha y una probabilidad de siniestro de 3.9%. Durante este ciclo, el 77.6% del volumen de producción se obtuvo con 10 municipios (con producción superior a 1,500 toneladas), el 11.3% del volumen de producción se cosechó de 12 municipios (con producción que va de 700 a 1,500 toneladas) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Clasificación descendente de municipios según los volúmenes de producción de Avena Primavera-Verano obtenidos durante el año 2015.

Estado	Muy alta producción (Producción municipal mayor a 1,500 ton)
Chihuahua	34,103 toneladas Namiquipa, Riva Palacio, Cusihiuriachi, Guerrero y Cuauhtémoc
Estado de México	18,482 toneladas Nicolás Romero, Texcaltitlán, Coatepec Harinas y Hueyoxtla
Durango	161 toneladas Durango
TOTAL	65,060 toneladas

*(SAGARPA, 2016)

Conforme a datos del SIAP-SAGARPA, a nivel nacional durante los ciclos perenes del año 2015 se obtuvieron 84,788 toneladas de avena, en una superficie sembrada de 48,643 hectáreas, con una probabilidad de siniestro de 0.4% y con un rendimiento promedio nacional de 1.79 toneladas por hectárea. Estratificando de manera optimizada los volúmenes de producción de avena de los 2,454 municipios de México se obtienen los rangos de producción que se detallan en el cuadro 4 y que muestran la producción generada en el año 2015 (Cuadro 4).

Cuadro 4. Clasificación descendente de municipios según los volúmenes de producción de Avena Otoño-Invierno obtenidos durante el año 2015.

Estado	Muy alta producción (Producción municipal mayor a 2,600 ton)
Chihuahua	82,36 toneladas Ascensión, Janos, Nuevo Casas Grandes, Ahumada, Buenaventura, Cusihiuriachi, Cuauhtémoc, Namiquipa, Aldama.
Durango	4,389 toneladas Durango, Guadalupe Victoria, Nombre de Dios, Cuencamé
Zacatecas	5,000 toneladas Fresnillo, Sain Alto
Sonora	415 toneladas Cajeme
TOTAL	19,728 toneladas

*(SAGARPA, 2016)

1.4. Variedades de avena

1.4.1. Karma

Variedad de ciclo intermedio, liberada en 1998 por el INIFAP, con hábito de crecimiento invernal, con floración entre 50-57 días y madurez fisiológica entre 90 a 93 días después de la siembra. En Chihuahua es resistente al acame, aunque es moderadamente susceptible al acame en los Valles Altos de México y moderadamente resistente a roya del tallo. Sus características distintivas son: alta relación panícula-tallo, mayor número de granos por panícula y tallos huecos y moderadamente suaves, lo que la hace apta para el uso forrajero, el grano es aristado de color café. Se recomienda para siembras intermedias y tardías en ambientes de mediana y buena productividad (Jurado y Lara, 2014).

1.4.2. Turquesa

La variedad Turquesa es una avena sobresaliente en rendimientos de grano y forraje y resistencia a enfermedades. Fue registrada en 2009 por el INIFAP. Su rendimiento de forraje alcanzó un promedio de 11 ton ha⁻¹, superior a Karma, Avemex, Obsidiana y Chihuahua, con un mínimo de 7.4 ton ha⁻¹ en ambientes de baja precipitación (menos de 300 mm en el ciclo). Es una variedad de porte alto (135 cm), tolerante al acame, de ciclo intermedio, con 105 días a madurez. Se sugiere la siembra de avena Turquesa en ambientes críticos, intermedios y favorables en todos los estados del país donde se produce este cultivo (Jurado y Lara, 2014).

1.4.3. Chihuahua

Variedad forrajera, liberada por el INIA en 1967, con amplio rango de adaptación para la región temporal era de Chihuahua. Es de ciclo tardío, con una floración de 55 a 66 días y 95 a 110 días a madurez fisiológica. La característica principal es que el grano es color blanco vistoso y grande. Es susceptible a las royas del tallo y de la hoja (Jurado y Lara, 2014).

1.5. Enfermedades de la avena

La producción de avena se ve afectada por enfermedades fungosas mismas que en algunos casos no han sido identificadas y que son un peligro potencial para la producción de este cereal en siembras de temporal. En análisis realizados para las variedades de avena Chihuahua, Cuauhtémoc y Ópalo, se identificaron los hongos fitopatógenos: *Helmintosporium sativum*, *H. victoriae*, *H. avenae*, *Puccinia coronata*, *P. graminis*, *Curvularia sp.* y los saprófitos *Alternaria sp.*, y *Phoma sp* (Leyva, et all, 2013).

Puccinia sp. y *Alternaria sp.* son dos enfermedades que inciden más en el cultivo y se pueden presentar desde la etapa de plántula hasta el llenado del grano. Además, el género *Puccinia sp.* es el segundo grupo de patógenos más destructivos de los cereales a nivel mundial y, al igual que especies del género *Alternaria sp.*, pueden ser transportadas en el grano o semilla mediante el monocultivo pudiéndose convertir en un serio problema (Leyva, et all, 2013).

1.5.1. Hongos endófitos

Los hongos endófitos se definen como microorganismos que pasan la mayor parte de todo su ciclo de vida colonizando los tejidos de la planta hospedera, sin causar daño evidente, se refiere a una asociación costo-beneficio no obstructiva y transitoria, definida por localización (no por función), y que se establece dentro de los tejidos de la planta hospedera. Cuando los factores de virulencia del hongo y las defensas de la planta están en equilibrio, se establece una relación endofítica, pues la relación entre los hongos endófitos y su planta hospedera puede ir desde el mutualismo hasta la patogénesis (Sánchez, et al, 2013).

Muchas plantas tienen por lo menos una enfermedad asociada al *Fusarium*. Así mismo este hongo puede crecer sin presentar aparentes síntomas endófitos, y se dice, “Si es verde, hay algún *Fusarium* que puede crecer en él o con él”. Los tipos de enfermedades inducidas son bastante variadas, así como su gravedad, y pueden incluir pudriciones de raíces o tallos, chancros, marchitez, pudriciones de frutos o semillas y enfermedades de las hojas (Leslie y Summerell, 2007).

1.6. Utilización de la avena en diferentes productos alimenticios

La avena ha sido parte de la dieta humana en Europa desde por lo menos el primer siglo de nuestra era. El consumo de avena persistió donde le siguen utilizando en forraje, pasteles, budines, bollos y leudado de productos. Con el fin de producir productos de panadería de alta calidad con levadura, la avena necesita ser mezclada con otros ingredientes debido a su carencia de gluten. En comparación con el trigo, la avena contiene menos almidón, un tercio más proteínas y casi cuatro veces más grasa (Strychar, 2011).

Dos factores que han limitado el uso de la avena para los alimentos históricamente, son la forma de granos enteros de avena y los requisitos de procesamiento térmico. A pesar de estas limitaciones, en la avena se ha encontrado una amplia gama de aplicaciones, debido a la creciente demanda de productos alimenticios "sanos" a raíz de la aprobación, en 1997. En la avena han encontrado una amplia gama de aplicaciones y se utilizan en la producción de cereales calientes, cereales de desayuno listos para comer, productos de panadería, bocadillos, galletas, alimentos infantiles, entre otros productos (Arendt, 2013).

1.6.1. Cereales calientes

El cereal caliente es el producto alimenticio más popular elaborado del grano de avena y se ha encontrado como líder en el mercado estadounidense, Reino Unido y el norte europeo. Los productos varían desde las hojuelas de avena por cocción instantánea, usualmente fortificadas con vitaminas y minerales. Weetabix, Kellogs y Quaker son algunas de las mayores compañías que son distribuidoras de desayunos de avena en caliente como cereales en el mercado (Arendt, 2013).

1.6.2. Cereales instantáneos.

Los cereales RTE (*Ready-to-eat*) representan el segundo producto más grande elaborado con avena. Estos incluyen productos müsli, inflados, hojuelados y extruidos. Un amplio rango de ingredientes (Fruta seca, malta, azúcar, nutrientes, saborizantes) y procesos (Tostado, enrollado, triturado y extruido) pueden ser empleados en la producción de productos RTE desde los productos derivados del avena molida (Arendt, 2013).

1.6.3. Productos panaderos de avena

La avena y sus productos derivados son usados en un amplio rango de panes y productos horneados. Sin embargo, debido a que la avena contiene β -Glucanos y una mínima cantidad o ausencia de gluten, es necesario un cambio tecnológico para producir pan con una calidad aceptable de volumen y textura empleando altas cantidades de avena (Oomah, 1983).

1.6.4. Galletas

La avena y fracciones de avena han encontrado una amplia aplicación en la producción de galletas por afectar la absorción de la masa de agua, sabor y textura de los productos finales. En particular, los factores de propagación de masa aumentan con una cantidad cada vez mayor de harina de avena molida en la formulación (Oomah, 1983).

1.7. Manejo de los productos elaborados y su almacenamiento

Existen empaques utilizados en panificación que permiten su conservación y los protegen de los cambios climáticos, elaborados de diversos materiales, tales como polietileno biodegradable que al ser desechado comienza su proceso de acelerada degradación, consumido por bacterias y hongos en un periodo de 3 a 5 años (Bimbo, 2017).

Se aconseja para evitar el endurecimiento del pan que se vaya a consumir en uno o dos días, meterlo en una bolsa de plástico y congelarlo por completo. Almacenar en la heladera tan sólo si se va a recalentar antes de ser ingerido (como por ejemplo las tostadas). Comparado con otros alimentos, el pan contiene poca agua, y esto significa que puede ser contaminado por hongos si no es adecuadamente almacenado. Las especies de hongos azules que suelen atacar el pan son: *Aspergillus* y *Penicillium* así como las especies de *Monilia sitophilia*. En los panes de origen industrial se suelen añadir tras el fermentado algunos antifúngicos con el objetivo de evitar la degradación por hongos y poder almacenar durante más tiempo el pan (EDIPAN, 2013).

La finalidad de los envases ergonómicos es adecuarse a la mano del consumidor final para facilitar la aplicación del producto. Uno de los materiales que más se utilizan para el envasado y distribución es el cartón, ya que por sus características de resistencia

proporciona seguridad y estabilidad a los productos a lo largo de la trayectoria logística, siendo los principales tipos de envases las cajas, tanto como plegadizas como las elaboradas de cartón corrugado (Serna, 2008).

La avena laminada o en copos debe ser fabricada a partir de granos de avena sanos y limpios, exentos de materia terrosa y en perfecto estado de conservación. No podrá estar húmeda, fermentada ni rancia, exenta de parásitos, larvas, hongos, impurezas y microorganismos que indiquen manipulación defectuosa del producto. Los productos de esta norma se deben envasar con un material resistente (Plástico o cartón) que evite su contaminación y no altere su calidad ni sus características organolépticas. Los envases unitarios se agrupan en cantidades adecuadas en caja de cartón corrugado y otro material que proteja al producto durante su almacenamiento y transporte (NMX-F-289-1997).

2.0. Hongos de campo y almacén

Los granos almacenados están sujetos al ataque de insectos y hongos que pueden disminuir la calidad del grano, y en algunos casos causar la pérdida parcial o total del mismo. Hongos como *Alternaria* y *Cladosporium* se presentan comúnmente en semilla de cosecha reciente, lo mismo que *Helminthosporium* y *Fusarium*, tales hongos infectan la semilla del campo, y en la siguiente estación pueden causar pudriciones de la raíz o algún otro tipo de daño en las plantas que nacen de semillas infectadas, pero no deterioran los granos en el almacén. (Christensen y López, 1962)

Los hongos que atacan a los granos en el almacén corresponden a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, los cuales no infectan los granos antes de la cosecha. Esto se puede ver claramente comparando su calidad y su baja germinación que presentan los granos. En México, en las pruebas de laboratorio, se encontraron mismas especies de hongos que se han encontrado en otros países. Esto es natural, ya que este tipo de hongos se encuentra en todo el mundo invadiendo diferentes clases de materiales. Su desarrollo está influido principalmente por el contenido de humedad y la temperatura de la semilla. En general, el hongo que se encuentra con más frecuencia en granos atacados es *Aspergillus*. Las especies más importantes dentro de este género son: *A. glaucus*, *A. candidus*, *A. ochraceus* y *A. flavus*, mencionadas en orden ascendente de acuerdo con el contenido de humedad requerido para su desarrollo en los granos. Este hongo es muy perjudicial porque causa la muerte de los embriones y los mancha de una coloración café o negra (Christensen y López, 1962).

Ciertas especies de *Penicillium* se encuentran también en granos en estado de deterioro, algunas veces invaden los embriones de estos granos y los cubren o reemplazan con una masa de esporas, que dan una coloración azul al pericarpio en la región del embrión. Las especies de este hongo requieren un contenido de humedad entre 15 y 17%, pero pueden invadir lotes de grano con una temperatura más baja que la requerida por las especies de *Aspergillus*. Puede decirse que la invasión de *Penicillium* se lleva a cabo donde el maíz se ha almacenado con un alto contenido de humedad y temperatura moderadamente baja. Las distintas especies de *Aspergillus* que son comunes en granos almacenados, tienen límites de crecimiento que son diferentes en cuanto al contenido de humedad, sus límites aproximadamente son los siguientes: *A. ochraceus* y *A. candidus*, 15.0 a 15.5 %; *A. flavus*, 18.5%. Por esta razón, la presencia de estas especies en semillas que estuvieron almacenadas, revela con exactitud las condiciones de alta o baja humedad que han prevalecido en los lotes de grano en almacenamiento (Christensen y López, 1962).

2.1. Condiciones que permiten la invasión de hongos en los granos almacenados

Los principales factores que determinan el grado de invasión de los hongos son los siguientes: Contenido de humedad del grano, temperatura, tiempo que dura el grano en almacenamiento, condición de la semilla e infestaciones de insectos (Christensen y López, 1962).

2.1.1. Contenido de humedad

Este es el factor más importante; en general el contenido de agua en el grano superior al 13% favorece el crecimiento de hongos en el grano, perjudicando su calidad. Muchas veces el contenido de humedad puede ser mal determinado por el uso de determinadores eléctricos de humedad cuya variabilidad puede ser del +/- 4.0%; se puede ver afectada por la absorción de la humedad del aire por el grano; las diferencias de humedad entre algunas porciones de un mismo lote de grano; las mezclas de grano cuyos contenidos de humedad son diferentes; la evaporación de la humedad que pasa de una porción a otra del mismo lote (Christensen y López, 1962).

2.1.2. Temperatura

Los hongos de granos almacenados crecen más rápidamente en una temperatura de 25 a 30° C. Su crecimiento es muy lento a 15°C, y casi cesa a una temperatura de 10°C. Si se quiere almacenar grano con un contenido de humedad superior a 14 o 15%, es preferible almacenarlo a temperaturas tan bajas como sea posible. De tal forma el deterioro por hongos será más lento, y el grano se podrá tener por un tiempo más largo en el almacén (Christensen y López, 1962).

2.1.3. Tiempo de almacenamiento

Mientras más alto es el contenido de humedad y la temperatura del grano, más corto es el tiempo que el grano puede tenerse almacenado sin el riesgo de ser dañado por los hongos de almacén. Los hongos se empiezan a desarrollar a los 3 o 4 meses, cuando la humedad está entre 14 y 15% y a una temperatura de 20 a 25°C. Cuando la humedad está entre 13 y 14% el grano puede almacenarse por un año sin que haya una pérdida considerable en su calidad; los granos con humedad entre 12 y 13% pueden almacenarse por varios años, sin riesgo de que haya daños por hongos en el almacén (Christensen y López, 1962).

2.1.4. Condición del grano

Cuando este no ha sido invadido por hongos, puede almacenarse mucho más tiempo sin sufrir daño alguno. El ataque de hongos generalmente no puede detectarse a simple vista, sino que es necesario hacer pruebas de laboratorio con el fin de conocer el estado actual de las muestras en cuanto a la infección de hongos de granos almacenados (Christensen y López, 1962).

2.1.5. Infestación de insectos

Generalmente los granos que han estado infestados por insectos, se encuentran invadidos por hongos, pues algunos insectos como diferentes especies de gorgojos invaden al grano almacenado y lo inoculan con las esporas de hongos que llevan fuera o dentro de su cuerpo. A medida que los insectos se desarrollan contribuyen a aumentar la humedad, la cual es absorbida por los granos. Las fumigaciones eliminan los insectos, pero tienen poco o ningún efecto sobre los hongos (Christensen y López, 1962).

2.2. Medios de crecimiento

Varios medios de agar se han utilizado como normas sobre la que crecen los cultivos para la identificación de especies de *Fusarium* (Burgess, 1991). Especies de *Fusarium* tienen fenotipos notoriamente variables cuando son cultivadas en diferentes medios de agar. Los medios generalmente se dispensan en cajas de Petri o tubos inclinados, a veces se

denomina una inclinación agar, en un tubo de ensayo para los medios con agar, o en frascos para medios sin agar (Leslie y Summerell, 2007).

2.2.1. Malta sal en agar (MSA)

El medio de cultivo malta sal en agar al 4 ó 6 % de sal, permite aislar prácticamente a la mayoría de hongos que invaden a los granos y semillas, tanto hongos de campo como hongos de almacén. La alta presión osmótica de los medios con alto contenido de sal (10 ó 15 % de NaCl) inhibe el desarrollo de ciertos hongos (*Rhizopus* y *Mucor*) y limita el de otros, facilitando el desarrollo de los hongos de los grupos *A. glaucus* y *A. restrictus*. Las especies del grupo *A. glaucus* son las más comunes en granos almacenados. Además el cloruro de sodio inhibe la germinación de los granos, facilitando las tareas de cuantificación de granos invadidos y la identificación de los hongos. Si se quiere aislar la mayoría de los hongos que normalmente se encuentran en los granos invadidos y la identificación de los hongos. Si se quiere aislar la mayoría de los hongos que normalmente se encuentran en los granos e ingredientes de los alimentos para animales, es necesario emplear diferentes medios de cultivo; sin embargo, para aislar la microflora que comúnmente deteriora los productos almacenados y que presenta un riesgo potencial como toxígeno, el usar uno o dos medios, de acuerdo a la experiencia personal del micólogo, es suficiente (Moreno,1988).

En cuanto a la calidad de la sal (NaCl) se recomienda usar del grado técnico. Uno de los problemas que frecuentemente se tienen para la cuantificación e identificación de los hongos en las cajas petri, es que las colonias de éstos se juntan y sobreponen; el Dr. David Sauer del U.S. Grain Marketing and Research Laboratory de Manhattan, Kansas, añade 0.2 mL de Tergitol NPX para limitar el crecimiento de las colonias en el medio de cultivo, quedando éstas pegadas al grano, sin cambiar las características morfológicas esenciales para su identificación (Moreno,1988).

2.2.2. Agar Papa Dextrosa (PDA)

Este medio se puede preparar con papas naturales o con el producto comercial deshidratado manufacturado por diferentes firmas, en tal caso, para su preparación, se seguirán las instrucciones etiquetadas. En este medio de cultivo ciertos hongos, como *Neurospora*, *Mucor* y *Rhizopus*, que frecuentemente son contaminantes en los

laboratorios, crecen rápidamente y enmascaran el desarrollo de otros hongos más lentos; otros medios como el malta sal agar, son menos favorables para estos hongos contaminantes de crecimiento rápido. Para eliminar bacterias se le añade al medio, justo antes de vaciarlo a las cajas de Petri, 3 mL de ácido clorhídrico (HCL) al 1% por litro de medio (Moreno, 1988).

Los conidios formados en PDA no son tan consistentes, ya sea en tamaño o la forma como las formadas en CLA o SNA, y por lo tanto son mucho menos fiables para su uso con fines de identificación. Sin embargo, las tasas de morfología de las colonias, la pigmentación y el crecimiento de los cultivos de la mayoría de las especies de *Fusarium* sobre PDA son razonablemente consistentes si el medio se prepara de una manera consistente, y si se inician los cultivos de inóculos estándar e incubados en condiciones estándar. Estas características de las colonias son a menudo criterios secundarios útiles para la identificación (Leslie y Summerell, 2007).

El PDA es usado por muchos investigadores para el aislamiento de especies de *Fusarium*. Nosotros no recomendamos este medio para dicho propósito, así pues, varios hongos saprófitos y bacterias pueden también crecer en el medio e interferir con la recuperación del *Fusarium* presente. (Leslie y Summerell, 2007).

2.3. Género *Fusarium*

Las especies de *Fusarium* se encuentran entre los hongos patógenos y saprófitos de plantas más estudiados, con varias especies que causan enfermedades en el maíz, avena, el trigo, la cebada y otros granos alimenticios. Reducen el rendimiento, así como la disminuyen la calidad y el valor del grano, esto se traduce en importantes pérdidas económicas. Adicionalmente, las especies de *Fusarium* producen químicamente una gama diversa de micotoxinas como diacetoxyscirpenol, tricotecenos: deoxinivalenol, nivalenol, toxina T-2, HT-2; zearalenona, fumonisinas, fusarin C, beauvericina, moniliformina, y proliferina fusible (Glenn, 2007; Mylona, 2011).

Sin embargo, si la planta está contaminada con micotoxinas, que conlleva el riesgo de intoxicación alimentaria o puede causar enfermedades crónicas graves. El avena como otros cereales pueden ser atacados por una variedad de enfermedades que se pueden transmitir a través de la semilla o a través del suelo (De la torre, et al, 2014).

Muchas enfermedades infectan avena durante la estación de crecimiento. Las enfermedades más importantes que afectan a la avena son: polvo (*Ustilago avenae*), roya de la hoja causado por el hongo *Puccinia coronata*, donde el punto se produce principalmente en las hojas, pero también puede afectar a la panícula, en el que el hongo penetra la cáscaras y semillas de la panícula provocando fusariosis, causada por hongos del género *Fusarium*, tales como *Fusarium poae*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*. Esta enfermedad reduce rendimientos y conduce a la inhibición del crecimiento y la reducción del número de núcleos (Glenn, 2007).

Especies de *Fusarium* en general tienen forma de hoz, phialoconidias septadas, y son comúnmente los hongos patógenos de plantas y suelos. Cuando colonizan los cereales (antes o después de la cosecha) u otros productos alimenticios, se convierten en una fuente importante de micotoxinas. Cepas específicas de algunas especies (*formae speciales*) son conocidos agentes casuales de marchitamiento vascular (Crous, et al, 2009).

2.3.1. Morfología

Sus *Conidioforos* son simples o densamente ramificados, terminando en *fiálida*. Aquellos formados rápidamente en la arteria miceliar son llamados conidióforos *miceliales* o *primarios*. Aquellos formados en la superficie de agar, regularmente más lentos en su crecimiento, son llamados *conidiomas* o *conidióforos secundarios*; estos últimos son regularmente más densos en sus ramificaciones y pueden agregarse para formar *esporodoquios*; cuando la colonia completa transformase su textura en babosa debido a las conidias, es llamado *pionote*. En muchas especies, *polifiálidos* desarrollan por proliferación subapical lateral proliferación de *fiálidos*, particularmente en conidióforas aéreas (Crous, et al, 2009).

Dos tipos de conidios se pueden regularmente distinguir. *Macroconidios*, usualmente conidiomas, son en forma de hoz y tabicados (*Figura 5*). La forma, tamaño (particularmente la anchura), detalles de células basales (con o sin extensiones de piesillos) y células apicales son de taxonomía importante. *Microconidios*, si se presentan regularmente aéreos, son más pequeños y generalmente no tabicados, organizados en cabezas o en cadenas. Las *clamidoesporas* pueden presentarse en posiciones terminales o intercaladas.

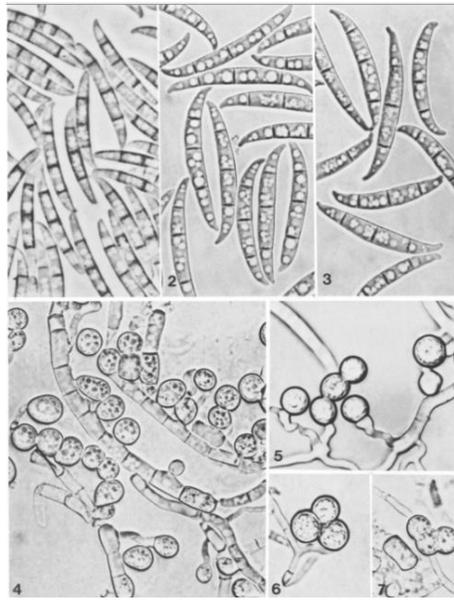


Figura 5. *Fusarium Oxisporum*. 1-3 – Macroconidios; 4 - 7 – Clamidosporas producidas individualmente, en pares, cadenas cortas y grumos (Burguess, 2016).

2.4. *Fusarium verticillioides*

Está ampliamente distribuido alrededor del mundo y particularmente está asociado a la planta del maíz donde puede causar la pudrición del tallo y podredumbre del grano, lo cual puede resultar en grandes pérdidas y reducción de la calidad del grano. Es más común en climas secos y cálidos, su infección es particularmente dañina si comienza antes de la floración. El *Fusarium verticillioides* puede entrar sistemáticamente desde las semilla, a través de heridas de la planta o infecciones en la espiga. Los granos infectados desarrollan un moho algodonoso o rayas blancas en el pericarpio y germinan estando aún cosechado el grano (García, 2014).

Telomorfo: *Gibberella moniliformis*

Sinónimos comunes: *Fusarium moniliforme*, *Gibberella fujikuroi* población de apareamiento A.

Según lo dictado por las reglas de nomenclatura, un estado sexual de hongos (teleomorfo) es reconocido con su propio independiente binomial científico del nombre asignado su estado asexual (anamorfo). Por lo tanto, los anamorfo *F. verticillioides* se asocian con su estado teleomórfico *G. moniliformis*, anteriormente conocido como población de

apareamiento *G. fujikuroi* A. Al menos nueve de tales poblaciones de apareamiento son ahora conocidos dentro del complejo de especies *G. fujikuroi* (Glenn, 2007).

Las colonias en PDA, de micelio funiculoso de baja densidad colorado de blanco a salmón pálido, usualmente polvoso con cadenas de microconidios; retrocediendo variando de medio en medio, salmón pálido, grisáceo, violeta, violeta pardusco o violeta oscuro, inicialmente los cultivos tienen micelio blanco, pero pueden desarrollar estas coloraciones con el tiempo (Pitt y Hocking, 2009).

Los macroconidios regularmente son largos y delgados, casi siempre rectos, de pared delgada, con células basales en forma de pie: macroconidios fusiformes a la claviforma, son producidos desde largos monofiáldes, formando cadenas.

2.4.1. Taxonomía

La sociedad internacional de plantología y el Comité Internacional en taxonomía de hongos (ISPP/ICTF) Subcomité Sistemático de *Fusarium*, propusieron que el nombre *verticillioides* es aplicado a las fumonisinas producidas por el hongo en el maíz, en los suelos que el nombre *moniliforme* representaba un amplio concepto de especie, y que *F. verticillioides* era indiscutiblemente el nombre más viejo, el cual, por lo tanto, tuvo mayor prioridad y es ahora generalmente aceptado para aislamientos desde el maíz y otros tantos recursos (Pitt, 2009). Dentro de los niveles taxonómicos que presenta este género, tenemos que se encuentra en la clase de Sordariomicetos O. E. Erikss & Winka, de la orden de hipocereales, de la familia nectriaceae (GBIF, 2016).

2.4.2. Fisiología

La máxima temperatura para el crecimiento de *Fusarium verticillioides* ha sido reportada para ser entre 32-37 °C, la mínima como 2.5-5 °C, y la óptima cerca de 25°C (Nirenberg, 1976). La mínima A_w para su crecimiento es de 0.87 a 25°C, después de 4 meses en su tiempo de germinación. La reducción del espacio superior en oxígeno del 20 al 2 % no afecta el crecimiento de *F. verticillioides*, pero el empacado al vacío con oxígeno absorbido, inhibe completamente su crecimiento (Pitt y Hocking, 2009).

Las fumonisinas B₁ y B₂ son producidas con al menos 0.92 de A_w en granos de maíz, pero no se detectan a 0.89-0.91 A_w en granos de maíz irradiado La máxima producción de

fumonisinias acontece con el 15% de oxígeno a 0.976 de A_w , pero con 5% de O_2 , 0.93 es la actividad de agua óptima (Pitt y Hocking, 2009).

2.4.3. Morfología

Morfológicamente *Fusarium verticillioides* es idéntico a las cepas de *F. thapsinum*, también es muy similar a *F. proliferatum* pero ésta última se caracteriza por formar cadenas de microconidios a partir de polifiálides (Figura 6). Las cadenas de microconidios producidas por *F. proliferatum* habitualmente son más pequeñas que las producidas por *F. verticillioides* (Figura 6 y 7) y a lo cual, pueden diferenciarse de manera fiable solamente utilizando pruebas de apareamiento o marcadores moleculares (García, 2014).

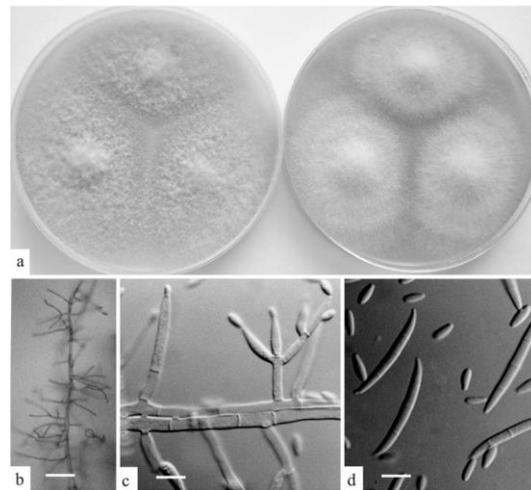


Figura 6. *Fusarium verticillioides* (a) colonias en PDA y DCPDA, 7d, 25°C; (b) fiálides sorportando cadenas de microconidios, barra= 50 µm; (c) fiálides, barra= 10 µm; (d) macro y microconidios, barra=10 µm (Pitt y Hocking, 2009).

2.5. *Fusarium proliferatum*

Agente causante de varias enfermedades de gran impacto económico en algunas plantas como el maíz, avena, cebada, espárragos y trigo (Faneli, et al, 2012).

El *Fusarium proliferatum* produce diferentes Micotoxinas entre las cuales se encuentran: moniliformina, ácido fusárico, beuvericina, fusaproliferina y fumonisinas. Morfológicamente el *F. proliferatum* pertenece a la sección *Liseola* del género *Fusarium* y a la fase telomorfa *Gibberella intermedia*, perteneciente al complejo *G. fujikurori*,

compuesto por al menos 13 especies biológicas reproductivas hasta el momento aisladas (Figura 7) (García, 2014).

Telomorfo: *Gibberella intermedia*

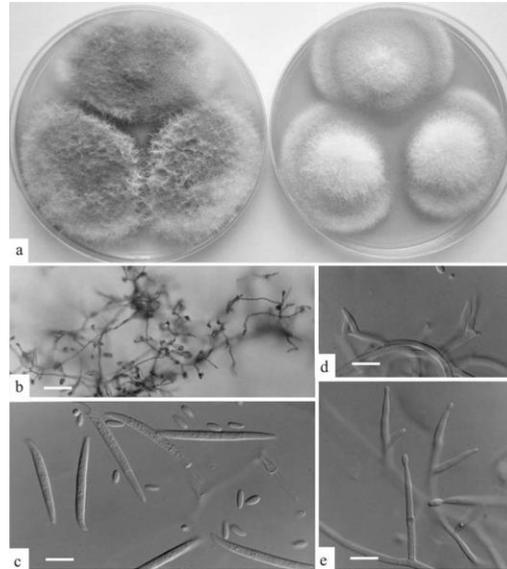


Figura 7. *Fusarium proliferatum* (a) colonias en PDA y DCPA, 7 d, 25 °C; (b) Fiálides soportando microconidios en cadenas y cabezas falsas in situ, bar= 50 µm; (c) macroconidios y microconidios, barr= 10 µm; (d) polifiálides, barra= 10 µm; (e) monofiálides, barra= 10 µm (Pitt y Hocking, 2009).

Considerado un generalista, *F. proliferatum* tiene una amplia gama de huéspedes inusualmente diversos cultivos agrícolas (por ejemplo, plátano, maíz, higo, mango, pino, sorgo y trigo), así como las praderas de pastos nativos. Esta especie es intrigante, ya que también produce una amplia gama de micotoxinas. (Glenn, 2007).

2.5.1. Taxonomía

Fusarium proliferatum es el estado asexual o anamorfo. El estado sexual o telomorfo que produce ascosporas no se conoce para estas especies. *Fusarium spp.*, cercamente relacionado a *F. proliferatum*, tiene telomorfos de *Gibberella* (Nelson, 1983). Morfológicamente, *Fusarium proliferatum* es indistinguible de *F. fujikuroi*. Estas dos especies pueden diferenciarse empleando pruebas de apareamiento o secuenciaciones de ADN. *F. fujikuroi*, el cual está asociado principalmente con arroz, no produce fumonisinas, en cambio muchos aislamientos de *F. proliferatum* lo hacen (Pitt y Hocking, 2009).

2.5.2. Fisiología

El óptimo pH y temperatura para el crecimiento de *Fusarium proliferatum* es de 5.5 a 25 °C. Sobre el rango límite de condiciones (0.97 - 0.92 A_w , 25 y 30°C), crece en rangos de dos aislamientos para el *Fusarium proliferatum* así como lo fue para el *F. moniliforme*. La mínima A_w para germinación fue de 0.88, donde no ocurre la germinación a 0.85 de A_w después de 40 días. La producción de fumonisinas es más alta a 25 que a 30 °C y a los más altos A_w probados (0.97). A niveles bajos de A_w aún se producen fumonisinas (0.92). La reducción del espacio superficial de O_2 de 20 a 2 % (con elevado CO_2) no tiene efecto en el crecimiento de *F. proliferatum*, pero en un envasado al vacío y la incorporación de sacos de barrido de oxígeno previenen su crecimiento. La aplicación de 1% de bicarbonato de amonio al maíz dentro de valores 0.99 y 0.92 A_w , previene el crecimiento y la producción de fumonisinas por *F. proliferatum* y se propone como posible tratamiento para el maíz almacenado. Los antioxidantes propilparabeno e hidroxianisol butilado (BHA) pueden también inhibir el crecimiento de la producción de fumonisinas por *F. proliferatum* bajo ciertas condiciones (Pitt y Hocking, 2009).

La producción de fumonisina B_1 se puede inhibir con una atmósfera de CO_2 a concentraciones de 40, 30 y 10 % a 0.98, 0.95 y 0.93 A_w respectivamente. Cuando la atmósfera controlada es de oxígeno, la producción óptima de fumonisinas ocurre con 20 % de O_2 a 0.98 A_w , pero a 0.95 y 0.93 A_w , más fumonisinas se producen con una atmósfera del 10% en O_2 (Pitt y Hocking, 2009).

2.6. Micotoxinas

Las Micotoxinas son el segundo metabolito de hongos las cuales son capaces de producir toxico agudo, carcinogénico, mutagénico, teratogénico y estrogénicos efectos en animales a niveles normales de exposición. El término micotoxina se deriva de las palabras griegas "MYKHE" (hongo) y "TOXIKON" (flecha de veneno) (Van Der Heijden, et al, 1999).

Los alimentos pueden contaminarse con hongos durante el cultivo, cosecha, transporte o almacenamiento y el crecimiento del hongo en condiciones adecuadas puede resultar en deterioro o en la producción de micotoxinas dañinas. La producción micotóxica que predomina en los alimentos es principalmente por las especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, que primariamente contaminan durante el cultivo y crecerán en alimentos almacenados si sus condiciones son favorables (Van Der Heijden, et al, 1999).

Basadas en su origen, las toxinas naturales en alimentos pueden dividirse en cinco principales categorías: micotoxinas, toxinas bacterianas, ficotoxinas, toxinas de plantas y zootoxinas. Las primeras tres categorías envuelven biocontaminantes. Los biocontaminantes son sustancias venenosas producidas por microorganismos vivos, ambas son formadas directamente en el alimento o en alimentos crudos o pueden existir como resultado de la transferencia dentro de la cadena alimenticia. Las últimas dos categorías envuelven componentes inherentes que son dañinos para humanos y animales (Jongen, 1986). Debido al comercio mundial de productos alimenticios y materias primas para los productos alimenticios, el riesgo para los seres humanos por las aflatoxinas no se limita a las zonas donde se producen las toxinas (Van Der Heijden, et al, 1999).

Las micotoxinas que mayormente conciernen a la salud humana son las aflatoxinas producidas por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, dos tricotecenos (deoxinilvalenol, nivalenol) y zearalenona producida por *Penicillium graminearum*, ocratoxina A del *Aspergillus ochraceus* y *penicillium verrucosum*. Otras micotoxinas de *Fusarium* que se han involucrado en envenenamiento animal o humano son la fumonisina B1 y la fusarina C, que son toxinas del *Fusarium moniliforme*, y la toxina T-2 que es otra toxina tricoteceno producida por *Fusarium sporotrichioides* (Van Der Heijden, et al, 1999).

La zearalenona es una micotoxina estrogénica que causa desordenes reproductivos en animales, mientras el deoxinilvalenol puede inducir desordenes y vómito en animales de granja además de que es un inmunosupresor. La ocratoxina A es nefrotóxico e inmunosupresor en diversas especies, causa tumores de riñón en animales experimentales y es clasificado por la IARC como posible carcinógeno humano (Van Der Heijden, et al, 1999).

La mayor micotoxina producida por *Fusarium verticillioides* es la fumonisina B1, la causa de leucoencefalomalacia en caballos, edemas pulmonares en cerdos y cáncer de hígado en ratas. Es una posible causa de cáncer esofágico en humanos y defectos del tubo neutral, inclusive provocar apoptosis en diversos tipos de células (Pitt, 2009) y estar relacionadas con defectos natales en humanos (Leslie, 2006). Las fumonisinas son fitotóxicas, pero su rol en enfermedades de plantas causadas por el *F. verticillioides*, de ser posible, aún no ha sido claramente definido (Leslie y Summerell, 2007).

Las fumonisinas también poseen algunas funciones antifúngicas. La producción tóxica es más alta en granos de maíz sin germen de lo que es en el tejido del germen de maíz. La fumonisina B1 es suficientemente termoestable que el calentamiento convencional durante la cocción o el procesamiento del grano de maíz no destruye el componente (Leslie y Summerell, 2007).

La ramificación genética de la biosíntesis de fumonisinas en *F. verticillioides* y *F. proliferatum* han sido secuenciadas teniendo un alto grado de sintenia genómica, pero flanqueando regiones que son completamente diferentes (Leslie y Summerell, 2007).

El *F. verticillioides* es también tóxico a otros numerosos animales, incluyendo babuinos, cabras, pollos, burros, caballos, ratones, conejos, ratas, ovejas y monos. Este hongo puede producir ácido fusárico y sus derivados, y trazar niveles de bauvericina. Fusarinas, particularmente la fusarina C, son producidas por muchas cadenas del *F. verticillioides* y una cantidad de la producción es sensible a niveles de zinc y manganeso en tiempos de fermentación (Leslie y Summerell, 2007).

El *F. verticillioides* no es conocido por producir tricotecenos, pero contiene genes que codifican enzimas funcionales en las rutas biosintéticas de tricotecenos. Este hongo no produce zearalenonas, pero puede producir 8-bostricoidinas, la cual puede ser confundida con zearalenona en ensayos TLC (Leslie y Summerell, 2007).

La toxicidad animal asociado con el maíz mohoso se ha documentado durante más de 100 años en los Estados Unidos. Se informó síndromes tóxicos para una variedad de animales, con caballos y mulas son particularmente propensos a tambalea, temblores, parálisis, convulsiones y muerte. Fue capaz de inducir leucoencefalomalacia equina en caballos alimentados con maíz mohoso contaminados de manera natural (Glenn, 2007).

Tales infecciones asintomáticas son motivo de preocupación debido a la posibilidad de contaminación por micotoxinas en maíz de alto grado que es visualmente sonado. Los granos de maíz que son generalmente conocidos, están infectados con frecuencia de *F. verticillioides*, lo que indica que la semilla de la transmisión es común y puede ser un importante mecanismo de dispersión y persistencia en un entorno de campo de maíz (Glenn, 2007).

2.6.1. Fumonisinias

Las fumonisinias son una familia de micotoxinas que contaminan al maíz y son producidas principalmente por los hongos *F. moniliforme* y el *F. proliferatum*, durante el cultivo y almacenamiento del grano (Torres, 2010). Este hongo es ante todo un patógeno de planta, la amplitud de la invasión de las plantas y los granos de maíz por el hongo variará según el punto o puntos de penetración en la planta en desarrollo (Codex, 2000) causando problemas en el mundo del maíz, sin embargo ha sido dilucidado, con la fumonisina B₁ siendo la más significativa en términos de existencia y toxicidad (Van Der Heijden et-al, 1999). Estas micotoxinas fueron aisladas y descritas 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 fumonisinias, 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% de las fumonisinias totales. La producción de fumonisinias está influenciada por la variedad de semilla usada para el cultivo, por las diferentes formulaciones de fertilizantes, así como por las variaciones en las condiciones de almacenamiento y características ambientales como temperatura, humedad y precipitación (Torres, 2010). La proporción entre FB1 y FB2 es de 3:1 aproximadamente en el maíz contaminado en circunstancias naturales (Codex, 2000).

2.6.1.1. Metabolismo

En humanos no existen estudios acerca del metabolismo y cinética de las fumonisinias. En animales de experimentación, una vez que ingresa al tracto gastrointestinal, la molécula se distribuye y elimina rápidamente en su forma original (80% en las heces y 3% en la orina). En el hígado y el riñón se encuentran bajas concentraciones y no existe evidencia de transporte transplacentario, lo que sugiere que el metabolismo endógeno y la exposición in útero, son improbables (Torres y López, 2010).

2.6.1.2. Efecto tóxico

Contrariamente a lo que muchas otras Micotoxinas, las fumonisinas no tienen estructuras cíclicas. Las moléculas consisten en una larga cadena alifática con dos grupos ester ligados a cadenas laterales con enlaces hidrofílicos y ante todo mitad amina. Su estructura física hace a las toxinas muy solubles en agua (Van Der Heijden, et al, 1999).

Las fumonisinas, las cuales existen principalmente en maíz y en alimentos comerciales a base de este grano, pudiendo considerarse como las aflatoxinas de los años 90's (Van Der Heijden, et al, 1999).

Las fumonisinas se han asociado con daños hepáticos y variaciones en los niveles de ciertos tipos de lípidos, especialmente esfingolípidos. Niveles crónicos elevados de fumonisinas en la alimentación (50 ppm como mínimo) se asociaron con cáncer de hígado y menos duración de la vida en ratones hembras y con cáncer de riñón sin reducción de la duración de la vida en ratas machos (Codex, 2000).

Material de cultivo de *Fusarium*, preparado a partir de una fracción aislada de *F. moniliforme*, provocó trastornos hepáticos o la muerte por insuficiencia cardíaca en babuinos. Estudios a largo plazo sobre monos de la especie *Cercopithecus aethiops* alimentados con material de cultivo que contenía fumonisinas revelaron efectos aterogénicos y toxicidad hepática. El caballo es al parecer la especie más sensible a las fumonisinas, y la leucoencefalomalacia equina es la enfermedad más frecuente asociada con *F. moniliforme* y se caracteriza por una necrosis liquefactiva de los hemisferios cerebrales. Material de cultivo que contenía fumonisinas suministrado a cerdos causó una insuficiencia hepática que culminó en edema pulmonar (Codex, 2000).

Debido a que las fumonisinas tienen una estructura química similar a la cadena larga de los precursores de los esfingolípidos (*Figura 8*) se considera que el metabolismo de estos últimos es el blanco de la acción tóxica de la fumonisina. El metabolismo de los esfingolípidos consta de dos etapas, la síntesis de novo a partir del complejo serina palmitoil-CoA y el recambio de esfingolípidos que incluye la hidrólisis de esfingolípidos complejos. En ambas etapas interviene la enzima ceramida sintetasa, la cual es bloqueada por la acción de la fumonisina (Torres y López, 2010).

Este bloqueo conlleva la inhibición en la síntesis de ceramida, incremento de la esfinganina y la esfingosina, una mayor degradación de las bases esfingoides provenientes de la dieta y, finalmente, una reducción en la formación de esfingomiélin (Torres y López, 2010).

Los esfingolípidos forman parte de la membrana celular e intervienen en los procesos de crecimiento, diferenciación y muerte celular al mantener la estructura de la membrana, la comunicación intercelular, la interacción entre las células y la matriz extracelular, regulando los receptores del factor de crecimiento y actuando como segundos mensajeros (Torres y López, 2010).

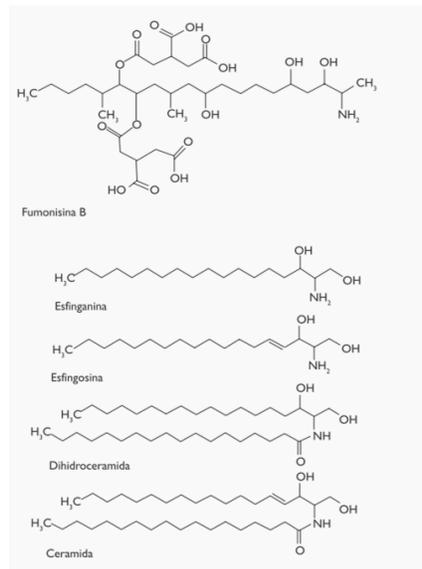


Figura 8. Estructura química de la fumonisina y los esfingolípidos (Torres y López, 2010).

El agotamiento de esfingolípidos complejos (ceramida, esfingomielina y glicofosfolípidos) y la acumulación de las bases esfingoides (esfinganina y esfingosina) alteran las funciones celulares mencionadas anteriormente, y favorecen el estrés oxidativo y la proliferación de peroxisoma, entre otros. A través de la activación del factor de necrosis tumoral, la exposición a FB1 altera el balance de muerte celular y replicación, y de esta forma contribuye a la carcinogénesis (Torres y López, 2010).

La IARC recientemente concluyó que es limitada la evidencia en animales de experimentación para la carcinogenicidad de la fumonisina B₁ y que las toxinas derivadas del *Fusarium moniliforme* es un posible carcinogénico en humanos. Se necesitan realizar estudios más extensos para obtener una imagen mejor de la toxicidad crónica en las fumonisinas. Estudios de carcinogenicidad con ratas fueron recientemente llevados por el *U.S. National Toxicology Program*. Para este propósito aproximadamente 800 g de fumonisina B₁ han sido aislados y purificados por la *U.S. Food and Drug Administration* (Van Der Heijden, et al, 1999). Cuando se detectan los residuos de fumonisinas se encuentran por lo general en tejidos de órganos (es decir, hígado y riñones) (Codex, 2000).

2.6.1.3. Control y análisis

Hay dos posibles enfoques para la detección de micotoxinas: biológicos y químicos. Los métodos biológicos pueden ser útiles en el vislumbramiento de Micotoxinas, especialmente cuando la identificación de Micotoxinas no es conocida. Los ensayos químicos, si disponen, son preferidos, porque estos generalmente son mucho más específicos, más rápidos, más reproducibles, y poseen límites más bajos de detección. Por lo tanto, estudios químicos son de mayor importancia para la determinación de micotoxinas en alimentos (Van Der Heijden, et al, 1999).

Se han elaborado muchos métodos de análisis para la determinación y cuantificación de FB₁ y FB₂, que pueden separarse y analizarse mediante cromatografía en capa fina, cromatografía líquida de alta resolución, cromatografía de gases-espectrometría de masas, electroforesis capilar y diversos métodos inmunoquímicos. Las fumonisinas son hidrosolubles, por lo que las extracciones iniciales suelen consistir en agua con proporciones variables de metanol o acetonitrilo. La cromatografía líquida de alta resolución se ha utilizado ampliamente para el análisis de fumonisinas. Las fumonisinas no tienen grupos absorbentes de ultravioleta o fluorescentes de importancia, por lo que casi todos los métodos de análisis requieren la formación de un derivado estable para la detección (Codex, 2000).

La purificación del extracto para remover lípidos y otras sustancias regularmente se hace por los extractos conductores a través de columnas cromatográficas o cartuchos empacados. Estos últimos están comercialmente disponibles con varios tipos de adsorbentes y en varios formatos, los cuales deben adecuarse a las necesidades del analista. Los avances más recientes en la limpieza de extractos conteniendo micotoxinas es el uso de cartuchos de inmuno-afinidad. Estas columnas están compuestas de anticuerpos monoclonales, específicamente para la toxina de interés, la cual están inmovilizados en Sefarosa® y empacados en cartuchos pequeños de plástico que pueden ser incorporados en sistemas de preparación de muestras completamente automatizados que toman a la muestra desde la etapa de extracción a través de la terminación del líquido de cromatografía de alto rendimiento (HPLC) en un desesperado modo de acción (Van Der Heijden, et al, 1999).

La significancia práctica de alguna de estas vías de detección sólo puede ser juzgada en el contexto de medidas. Por ejemplo, para diversas micotoxinas, una gran incertidumbre pudiera aceptarse si los niveles verdaderos son mucho más bajos que el límite de acción (Van Der Heijden et-all, 1999). Aunque el límite inferior de la expresión cuantitativa de muchos de los métodos actualmente disponibles es de 0.1 ppm aproximadamente, los

límites de detección notificados suelen ser mucho más bajos. No se ha sometido al examen y evaluación del Comité Codex sobre Método de Análisis y Toma de Muestras (CCMAS) ningún método de análisis validado para las fumonisinas (Codex, 2000).

Los niveles más altos suelen encontrarse en el maíz cultivado en países con climas más cálidos. La aplicación de buenas prácticas agrícolas puede reducir en cierta medida la contaminación del maíz antes de la cosecha, pero hay otros factores, asociados con la relación entre la infección del maíz sobre el terreno con especies de *Fusarium* y la producción de fumonisinas, que en la actualidad no se conocen bien (Codex, 2000).

2.7 Regulaciones

Muchos países han establecido medidas para asegurar la salud de los consumidores y del interés económico de comerciantes y productores. Varios factores pueden influenciar las decisiones realizadas por autoridades para establecer límites sobre micotoxinas verificadas. Entre estos científicos y factores no científicos, incluyen:

- a) La disponibilidad de datos toxicológicos. Sin información toxicológica no puede haber una evaluación del peligro, uno de los ingredientes básicos de la evaluación de riesgos.
- b) La disponibilidad de los datos analíticos de la encuesta. Estos pueden indicar qué productos deben ser considerados para la acción reguladora, y proporcionar una base para la evaluación de la exposición.
- c) La distribución de las micotoxinas sobre los productos básicos. Si tal distribución no homogénea es, como es el caso de las aflatoxinas en cacahuetes, hay una buena probabilidad de que la concentración de micotoxinas es el lote para su control se estimará de forma incorrecta, debido a las dificultades en el muestreo representativo.
- d) La disponibilidad de métodos de análisis. El cumplimiento de las regulaciones de micotoxinas se basa en última instancia, de la capacidad del analista para identificar y cuantificar con precisión estas toxinas.
- e) La legislación de otros países con los contactos comerciales que existen. acciones regulativas estrictas innecesarias pueden crear dificultades para los países importadores de aprovisionamiento de productos de primera necesidad, mientras que para los países exportadores pueden surgir dificultades para encontrar mercados para sus productos.

- f) Suministro de alimentos suficientes. La filosofía de regulación no debe poner en peligro la disponibilidad de algunos productos a precios razonables. Esto es especialmente importante en los países en desarrollo (Van Der Heijden et-al, 1999).

Es difícil estimar la ingestión de fumonisinas a escala mundial a causa de la amplia variación observada en algunas zonas (por ejemplo Sudáfrica y China), en los Estados Unidos, por ejemplo, casi todos los consumidores sufren una exposición a las fumonisinas inferior a 10 µg/día (Codex, 2000).

Ponderando los factores diversos que juegan un rol en el proceso de la toma de decisión de establecer tolerancias micotoxigénicas, no es sencillo. Sin embargo, las regulaciones micotoxigénicas han sido establecidas en muchos países en décadas pasadas (Stoloff, 1991).

2.8 Prevención y eliminación

La prevención de la formación de micotoxinas es aún un problema mayor, no solo en los países en desarrollo, pero también en la parte industrializada del mundo. La mejor manera de prevenir micotoxinas en alimentos y alimento para animales es reducir el crecimiento de hongo en la mercancía agrícola. Varias estrategias prácticas son posibles de manejar para el hongo micotoxigénico (GASGA, 1993).

Asimismo, la tecnología de extrusión usada en la industria productora de cereales para desayuno, botanas y alimentos para animales, y durante la cual la harina de maíz se somete a alta presión a temperaturas que varían entre los 100 y 200 °C y a una humedad entre 13 y 30%, disminuye significativamente las fumonisinas, en especial bajo condiciones de poca humedad, en contraste con el aumento que se observa para otras micotoxinas (Torres y López, 2010).

Se han observado niveles inferiores de toxinas en productos de maíz molturado. Las fumonisinas son termoestables, por lo que la cocción ordinaria y los procesos térmicos no reducen sustancialmente sus niveles en los alimentos. Los cereales para desayuno listos para el consumo, como por ejemplo copos de maíz y cereales del tipo de maíz hinchado, se fabrican a partir de fracciones de maíz molturado en seco; estos productos están prácticamente exentos de fumonisinas (Codex, 2000).

2.9. Desarrollo de cultivos resistentes

Los cultivos han sido desarrollados con resistencia contra mucho patógenos de plantas, incluyendo la resistencia a la fusariosis de espiga por *Fusarium*. El uso de tales cultivos eliminará tricotecenos como deoxinivalenol y nivalenol del suministro alimenticio. Han sido menos exitosos los intentos de producir cacahuetes y maíz resistentes a aflatoxinas. El desarrollo de cultivos resistentes tiene que ser cuidadosamente preservado, porque hay implicaciones toxicológicas que los mismos factores de resistencia tienen para los consumidores (Van Der Heijden, et al, 1999).

2.9.1. Reducción de niveles en hongos toxigénicos.

Esto puede lograrse por el uso de fungicidas e insecticidas (Donde los insectos juegan el rol más grande como vectores de hongos toxigénicos) y el uso de ocurrencia natural de antihongos y agentes antiinsectos (fitoalexinas). El uso de fungicidas e insecticidas puede ser bloqueado en práctica por cuestiones ambientales, mientras las fitoalexinas pueden tener implicaciones toxicológicas. Un nuevo desarrollo es el uso de hongos específicos micotoxigénicos como competidores, una técnica encontrada incrementa la aplicación en plantas patológicas (Cole, 1994).

2.9.2. Prevención del crecimiento fúngico.

Northolt reportó que el crecimiento fúngico y la producción de toxina en gran parte depende de factores físicos como actividad de agua (A_w) y la temperatura (Northolt, 1979). Mantenimiento de alimentos debajo de A_w 0.7 y una baja temperatura es generalmente efectivo para el control crecimiento fúngico disperso y la producción de micotoxinas. Las prácticas de buen almacenamiento pueden no siempre prevenir el problema de la formación de micotoxinas, porque las micotoxinas son algunas veces producidas antes o inmediatamente después de la cosecha (GASGA, 1993).

Si las medidas preventivas han fallado, la última posibilidad de evitar la existencia de micotoxinas en alimentos es eliminar a las mismas. En principio los consignamientos de la contaminación por micotoxinas en alimentos podrían ser desarrollados por el removimiento de micotoxinas (segregación) o por convertir la micotoxina en una forma no

tóxica (degradación). La degradación se logra por medios físicos, químicos o biológicos (Smith, 1985).

Los procedimientos químicos se basan en la aplicación de agentes oxidantes, aldehídos, ácidos, y bases para destruir las aflatoxinas. El agente de detoxificación química que más ampliamente ha tomado interés, es el amoníaco, como vapor anhídrico y como solución acuosa. El tratamiento de la aflatoxina B₁ con amoníaco lleva a la apertura del anillo de lactona de su molécula (*Ver figura 8*), y reacciones adicionales pueden ocurrir dependiendo de las condiciones de proceso. La amoníación de mercancía agropecuaria lleva a la descomposición de aproximadamente 95-98% de las aflatoxinas presentes. La amoníación es usada en varios países para la descontaminación de alimento animal. Sin embargo la aprueba formal por *U.S. Food and Drug Administration* así mismo la Comisión Europea, es aún carente (Smith, 1985).

En adición en los procesos físicos y químicos para deshacerse de micotoxinas, hay también posibilidades biológicas, por ejemplo, procedimientos que están en desarrollo para degradar aflatoxinas en alimentos con ayuda de la bacteria *Flavobacterium aurantiacum*, pero no se ha publicado mucho al respecto. Así, principalmente hay varias maneras de deshacerse de las micotoxinas, pero cada una tiene sus desventajas, y esto ciertamente sostiene que es mejor la prevención que la cura (Smith, 1985).

Capítulo 2. Metodología experimental

“No vemos las cosas como son, vemos las cosas como somos nosotros.”

Confucio.

3.1. Objetivos

Objetivo general

Evaluar la microbiota y presencia de fumonisinas en granos de avena y productos comerciales elaborados con avena mediante técnicas preestablecidas para detectar la presencia de hongos productores de fumonisinas.

Objetivo particular 1

Cuantificar por medio de anticuerpos monoclonales, la concentración de fumonisinas para granos de avena y productos de distintas fuentes para determinar su calidad sanitaria de acuerdo a la norma NOM-247-SSA1-2008.

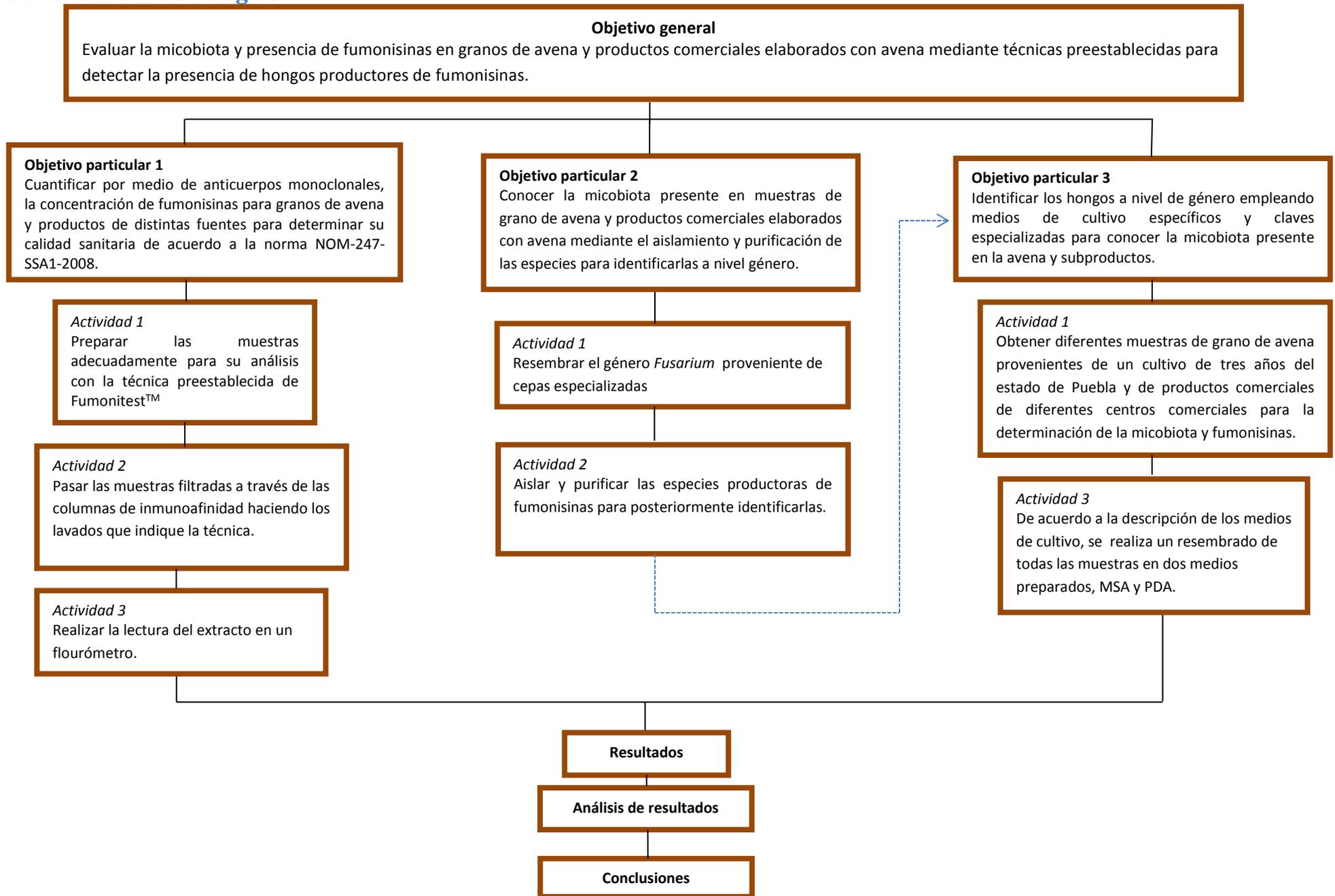
Objetivo particular 2

Conocer la microbiota presente en muestras de grano de avena y productos comerciales elaborados con avena mediante el aislamiento y purificación de las especies para identificarlas a nivel género.

Objetivo particular 3

Identificar los hongos a nivel de género empleando medios de cultivo específicos y claves especializadas para conocer la microbiota presente en la avena y subproductos.

3.3. Cuadro metodológico



3.4. Materiales y Métodos

3.4.1. Material Biológico

Los granos de avena se encontraban almacenados en UNIGRAS de FES-C, cultivados en el estado de Puebla provenientes de tres ciclos, 2013, 2014 y 2015, así como de tres variedades diferentes, Karma, Chihuahua y Turquesa, esto con el fin de evaluar la micobiota presente pues el origen de estos granos para elaborar productos comerciales no data de un solo año de cosecha específico.

3.4.2. Muestras comerciales

Se seleccionaron 15 productos diferentes derivados de la avena, provenientes de distintos lugares, como lo fueron supermercados, tiendas de autoservicio, mercados, se trataron de elegir tres lotes diferentes para homogeneidad de los resultados. Estos productos declaran en su etiquetado o informan estar elaborados con avena como ingrediente principal o secundario (*Cuadro 6*).

Cuadro 5. Productos comerciales empleados para los análisis.

<i>Clave de Muestra</i>	<i>Producto/Marca</i>	<i>País de origen</i>	<i>Lote</i>	<i>Caducidad</i>
<i>Oagr</i>	Oats avena / Granvita	México	20155	15-10-16
			30155	15-10-16
			30153	13-10-16
<i>Bra</i>	Avena natural en hojuela; Grano entero / Branli	México	L5008G1	JUL-16
			L5021G1	JUL-16
			L5017G1	JUL-16
<i>Max</i>	Granola Maxinola / Maxilu	México	0715	16-11-16
			0715	16-11-16
			0815	23-11-16
<i>Grbr</i>	Cereal de avena / Gerber / Nestlé	México	50214511E1B	JUL-2016
			50214511E1B	JUL-2016
			50214511E1A	JUL-2016
<i>Nes</i>	Cereal infantil / Nestlé	México	5006451101	JUL-2016
			5006451101	JUL-2016
			5005451102	JUL-2016

<i>Oh!</i>	Aritos de avena de grano entero fortificados (Oh!s) / Quaker	México	31MA16364 31MA16364 31MA16364	08 MAR 16 08 MAR 16 08 MAR 16
<i>Fla</i>	Avena flakes (Hojuelas fortificadas de trigo y avena) / Quaker	México	31MA22494 31MA22494 31MA22494	31MAY16 24MAY16 24MAY16
<i>Voo</i>	Galletas de avena sin azúcar / Voortman	Canadá	0820TU 0820TU 1417TH	16-01-2016 16-01-2016 19-12-2015
<i>Qui</i>	Avena total / Quick	México	54 54 54	2-2016 2-2016 2-2016
<i>Oaq</i>	Hojuela de avena natural / Quaker Oats	USA	QI16075 FB QI17065 VR QI17065 VR	16/FEB 16/FEB 16/FEB
<i>AIGA</i>	Avena instantánea integral con arándanos / Granvita	México	23254 20476 20296	21.11.16 16.02.17 29.11.16
<i>Gfr</i>	Galletas de avena y frutos rojos / Quaker	México	11CE24046 11CE24106 11CE11096	31-JUL-16 11-SEP-16 04-SEP-16
<i>AIGN</i>	Avena instantánea integral miel con nuez / Granvita	México	30786 30756 30886	18-03-17 15-03-17 28-03-17
<i>AIQF</i>	Instan (Cereal de avena fortificado sabor fresas con crema) / Quaker	México	MGTE12026 PGTE12096 PCTE22086	06 NOV 16 25 DIC 16 18 DIC 16
<i>AIQN</i>	Instan (Cereal de Avena fortificado con nueces, pasas y dátiles) / Quaker	México	PLTE21086 PLTE21086 PLTE21086	28 AGO 16 28 AGO 16 28 AGO 16

3.4.3. Detección de fumonisinas

La detección de fumonisinas en productos elaborados con avena o que en sus ingredientes reportan avena para su elaboración se realizó por triplicado ocupando tres lotes de elaboración del producto. La prueba en granos de avena se realizó también por triplicado para cada variedad tomando como base los tres ciclos de cultivo en cada año (M1-2013, M2-2014, M3-2015).

3.4.3.1. Extracción de la muestra

1. Pesar 50 g de muestra molida con 5 g de sal y colocar en el vaso de la licuadora (*Figura 9*).
2. Agregar al vaso 100 mL de una solución de metanol : agua (80 : 20).
3. Cubrir el vaso de la licuadora y licuar a alta velocidad durante 1 minuto.
4. Remover la tapa del vaso y verter el extracto dentro de un papel filtro estriado. Juntar el filtrado en un recipiente limpio (*Figura 10*).



Figura 9. Molienda de la muestra



Figura 10. Extracción

3.4.3.2. Dilución del extracto

1. Pipetear o colocar 10 mL del extracto filtrado en un vaso limpio.
2. Diluir el extracto con 40 mL de PBS/0.1% Tween-20 Buffer de Lavado. Mezclar muy bien.
3. Filtrar el extracto diluido a través de **papel filtro de microfibra 1.0 μm** dentro de un vaso limpio o directamente dentro del cilindro de la jeringa usando marcas en un lado del cilindro para medir 10 mL. Usar un nuevo papel filtro de microfibra para cada columna (*Vicam part, 2005*).

3.4.3.3. Columnas de anticuerpos

1. Pasar 10 mL del extracto diluido completamente a través de la columna de afinidad del FumoniTest™ en un rango aproximado de 1-2 gotas/segundo hasta que el aire llegue a través de la columna (*Figura 11*).
2. Pasar 10 mL de PBS/0.1% Tween-20 Buffer de lavado a través de la columna a un rango de 1-2 gotas por segundo.
3. Pasar 10 mL de PBS (**No PBS/0.1% Tween-20**) a través de la columna a un rango de 1-2 gotas por segundo hasta que el aire llegue a través de la misma columna.
4. Eluir la columna de afinidad pasando 1.0 mL de metanol grado HPLC a través de la columna a una velocidad de 1 gota/segundo y recolectar toda la muestra de la muestra eluída (1.0 mL) en un vial de vidrio.
5. Agregar 1.0 mL de mezcla reveladora A y B en el vial de vidrio. Mezclar bien y colocar el vial en el flourometro calibrado. Leer la concentración de fumonisinas después de 240 segundos (*Vicam, 2015*).



Figura 11. Tratamiento de columnas con anticuerpos monoclonales

3.4.4. Preparación de medios de cultivo

Para preparar el medio de papa dextrosa agar (PDA) a partir de papas naturales se procedió de la siguiente manera. Se lavaron de 200 a 300 gramos de papas, se rebanaron e hirvieron hasta tener una consistencia suave, se exprimieron a través de dos o tres capas de manta delgada (gasa). Se recibió el filtrado en un matraz, se añadieron 20 g de dextrosa y 20 de agar aforándolo a un litro.

Para la preparación de un litro de malta sal agar (MSA) se requirieron de 20 g de extracto de malta, 15 g de agar y 60 g de cloruro de sodio, se disolvió todo a 80°C y se aforó a un litro.

Se esterilizaron los medios 20 minutos a 15 libras de presión. Cuando los medios estuvieron casi fríos (±. 40°C) se vertieron en cajas de Petri estériles.

3.4.5. Determinación de micobiota

Se seleccionaron 50 granos de cada muestra de avena utilizando el método de cuarteo, al término de esto, se separaron en frascos de vidrio debidamente etiquetados según la muestra contenida.

Después de la selección se agregó hipoclorito de sodio (NaClO_2) al 2% por separado en un frasco de vidrio, manteniendo su agitación por 1 minuto para su desinfección superficial, Al término de la desinfección de cada muestra, la solución de hipoclorito de sodio fue desechada y los granos se enjuagaron con agua estéril, retirando el exceso (*Figura 12 y 13*). En seguida de la desinfección, los granos de avena (20 ejemplares) se tomaron con pinzas estériles y se colocaron dentro de una caja de Petri con medio de cultivo (*Figura 14*). Esta operación se realizó por triplicado en cada muestra. Los productos comerciales se pesaron previamente para cada muestra que también se realizó por triplicado y en este caso no se realizó una desinfección, se colocó la muestra directamente en las cajas con medio de cultivo y todas las muestras se incubaron a 25°C por 7 días. Consecutivamente se identificaron los hongos en un portaobjetos con una gota de azul de algodón y se observaron en un microscopio, empleando claves de identificación para los géneros que se hallen (Moreno, 1988).



Figura 12. Secado de granos estériles sobre papel (Propia autoría, 2016).



Figura 13. Secado de granos estériles (Propia autoría, 2016).



Figura 14. Resiembra de granos de avena en cajas de Petri medio de cultivo PDA en un ambiente estéril (Propia autoría, 2016).

3.4.6. Cultivo de hongos pertenecientes al género *Fusarium spp.*

Los hongos pertenecientes al género *Fusarium* obtenidos de cada muestra se resembraron individualmente en placas con medio de cultivo PDA, sellando las cajas Petri con parafilm incubándose a 25°C por 7 días hasta haber desarrollado el crecimiento de cada aislado para asegurar un cultivo puro (Figura 15).



Figura 15. Aislamiento de *Fusarium* en medio PDA cultivado durante 7 días; T 25°C; con presencia de luz (Propia autoría, 2016).

3.4.8. Micromorfología para los aislados de *Fusarium*.

La determinación de las características micromorfológicas de las especies de *Fusarium* se realizó por medio de la técnica de Ridell (Microcultivos) de la siguiente manera:

1. Se cortaron cuadros de PDA de una caja de Petri de 1 cm de lado y 3 mm de espesor con el bisturí estéril y caliente.
2. Se colocó el cuadro de PDA en un portaobjetos que estaba sobre una varilla de vidrio doblada en forma de "V" en una caja de Petri (Previamente esterilizada).
3. Se tomó con el asa el inóculo del hongo previamente purificado y seleccionado.
4. Se inocularon por picadura en cada uno de los lados del cuadro de PDA
5. Se colocó sobre el PDA un cubreobjetos estéril y se presionó ligeramente para que se adhiriera al medio de cultivo.
6. Posteriormente se adicionaron 5 mL de glicerol al 10% en la caja Petri (Figura 16).



Figura 16. Microcultivo de PDA inoculado con *Fusarium*, técnica de Ridell (Propia autoría, 2016).

7. Se incubó la caja a 25°C durante 7 días.
8. Pasados estos 7 días ya se puede identificar el hongo, se procedió a retirar el glicerol con una micropipeta.
9. Se desprendió con cuidado el cubreobjetos que se encuentra sobre el cuadro de PDA y se colocó sobre un portaobjetos nuevo que contenía una gota de azul de algodón, se selló la preparación con una resina.
10. Se observaron las preparaciones a x10, x20 y x40 sobre el microscopio. Tomando en cuenta cada una de las partes como sus hifas, conidióforos, microconidios y macroconidios.
11. Se siguió el formato propuesto en las claves morfológicas de *Leslie and Summerell 2006 (Figura 17)*, las cuales toman en cuenta la presencia, tamaño y forma de clamidosporas, micro y macro conidios.

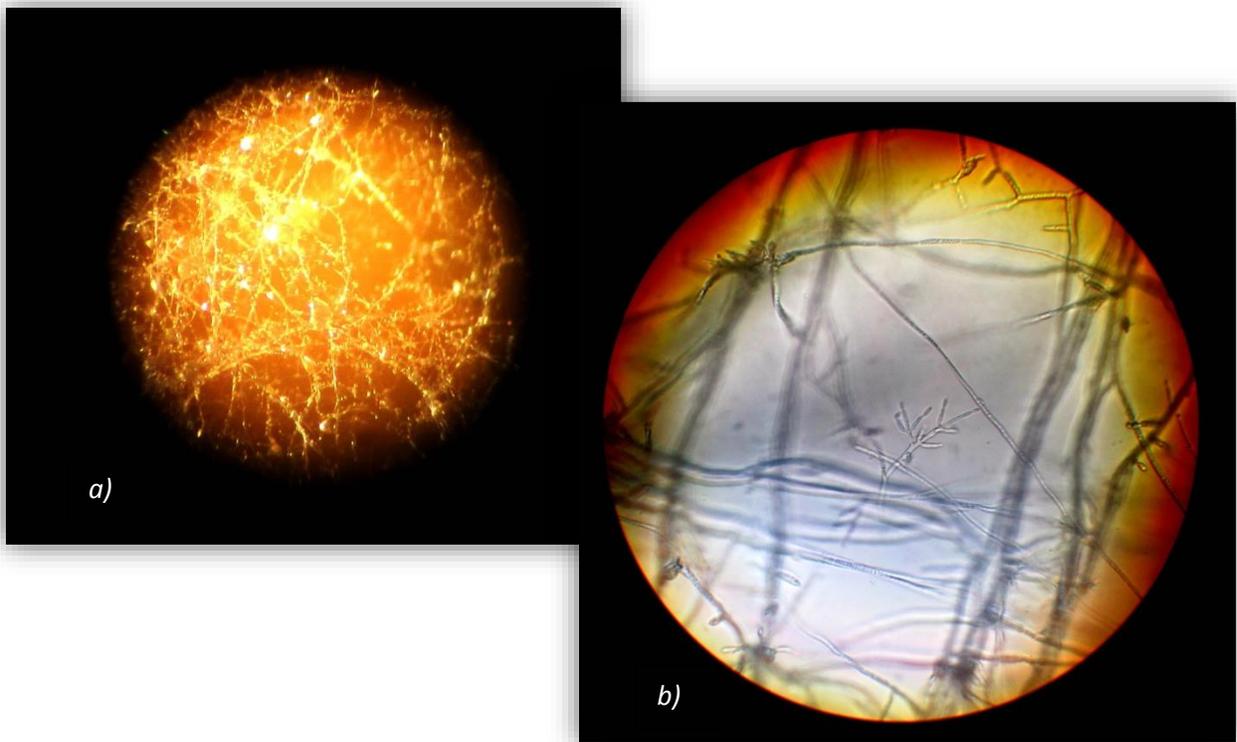


Figura 17. Género *Fusarium* a) Micelio del hongo con hifas apreciables (x10), b) Conidióforo con conidios como estructura de reproducción (x40) (Propia autoría, 2016).

Capítulo 3. Resultados y discusión

“No le pongas atención a lo que hacen o dejan de hacer los demás; presta atención a lo que tú haces o dejas de hacer.”

Buda

El presente estudio se realizó en tres partes experimentales; la primera fue el aislamiento y purificación del hongo *Fusarium*, posteriormente se determinaron las fumonisinas en todas las muestras incluyendo granos de avena y productos comerciales, en la tercera etapa se realizó la determinación de la microbiota endógena y exógena de las muestras correspondientes con objeto de conocer la calidad sanitaria de las mismas.

El proveedor correspondiente productor de avena, proporcionó muestras de distintos ciclos de cultivo así como de almacenamiento (cosechas 2013, 2014 y 2015) y variedades de avena en tipo Karma, Chihuahua y Turquesa originarias del estado de Puebla. Se desconocen las condiciones de almacenamiento en silos, pues estas muestras se encuentran en la unidad UNIGRAS de la FES Cuautitlán de donde fueron tomadas y cuya temperatura de almacenamiento era de 4°C.

4.1. Detección de fumonisinas en productos comerciales

En la prueba de determinación de fumonisinas la cual se expresó en concentración ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) (Figura 18), observamos que el producto con mayor concentración de fumonisinas es el cereal de avena instantáneo con fresas (AIQF) con 3727 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ en su contenido, seguido del cereal de avena mexicano con arándanos (AIGA) con 3033 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de esta micotoxina. Tournas (2015) presenta en su trabajo que en muestras de frutos secos halló la presencia de la micotoxina en estudio, donde el principal hongo contaminante es el *Aspergillus niger* y que también se ha demostrado, es productor de fumonisinas, a partir de esto, se demuestra que en este trabajo realizado entre las muestras de avena instantánea, las concentraciones más altas son presentadas por las que contienen frutos deshidratados, fresa y arándano en los resultados obtenidos. Todas las muestras de producto comercial presentaron fumonisinas. Los productos con menor concentración de fumonisinas fueron dados por las muestras de cereal de trigo y avena (Fla) con 397 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ seguido del cereal de avena infantil (Grbr), que presentó 400 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Comparando los resultados con la *European Commission Regulation No. 1881/2006* en cuanto a límites para fumonisinas en alimentos a base de maíz destinados al consumo humano directo, sólo tres muestras (AIGA, AIQF y Gfr) exceden el límite establecido de 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, siendo que la avena en hojuelas Oaq se aproxima a este valor, adicionando que también los alimentos procesados para niños (Nes y Grbr) exceden por más del doble el límite establecido de 200 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. También conforme a *ECR* las muestras *Oh!* Y *Fla* consideradas como cereales para desayuno a base de maíz, trigo y avena, no sobrepasan el límite descrito de 800 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

Ninguna muestra presenta diferencias significativas entre sí (Tuckey-Kramer; $\alpha = 0.05$) aunque numéricamente sí se presenten diferentes los valores, gran parte de las muestras analizadas presentan una alta desviación estándar por parte de su resultado. Recordemos que el crecimiento fúngico no se desarrolla en una sola dirección o zona de invasión, sino que de donde se desarrolla la espora, crece el hongo produciendo sus micotoxinas en zonas no homogéneas de la planta y desde ahí, hacia el grano.

La presencia de fumonisinas en todas las muestras de productos comerciales sobrepasando una concentración mínima de 397 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, posiblemente se debe a la gran variedad de ingredientes de los cuales están producidos estos productos, como es el caso de la harina de maíz, arroz o trazas de otros productos que pudieron haberse contaminado con esporas y que se desarrollaron posteriormente en los hongos correspondientes productores de fumonisinas, durante su cultivo como materia prima o a través de un mal manejo en su almacenamiento.



*Letras iguales no son significativamente diferentes, Tuckey-Kramer ($\alpha = 0.05$).

Figura 18. Determinación de fumonisinas en productos comerciales expresado en concentración ($\mu\text{g}/\text{Kg}$).

4.2. Contaminación presente de fumonisinas en granos de avena.

Para tener mejores referencias en cuanto a la post-cosecha y almacenamiento, se analizaron muestras del grano de avena de tres ciclos de cultivo mencionados anteriormente con tres lotes diferentes de referencia (*Figura 19*).

Primeramente, la variedad que presentó menos concentración de fumonisinas en sus tres ciclos de cultivo, es la Chihuahua (0 µg/Kg), seguida de la variedad Karma (330, 8 y 160 µg/Kg), la variedad que presentó valores más altos de fumonisinas fue Turquesa (293, 160 y 334 µg/Kg). Es posible que las precauciones hacia las buenas prácticas de agricultura y almacenamiento así como las condiciones climatológicas distintas hayan transformado con el paso de los años los cultivos de esta región, además que la variedad Chihuahua no presentó fumonisinas pudiendo interpretarlo desde un punto de vista en su almacenamiento, que el espacio donde se guarda esta variedad tiene mejores condiciones de humedad y temperatura o esta variedad es por una razón, menos susceptible al ataque de hongos de campo. Ninguna muestra presenta entre sí diferencias estadísticamente significativas a pesar de que la variedad Chihuahua numéricamente sí demuestra ser diferente de otras dos variedades. En el caso especial, Pacheco (2007) nos menciona que la variedad Chihuahua es la especie de avena más susceptible a enfermedades foliares tal es el caso para el crecimiento del hongo *Puccinia coronata* y *Puccinia graminis* (Roya común) que no generan micotoxinas pero que pueden haber inhibido el crecimiento a manera de competencia con especies productoras de fumonisinas, en cambio, también nos dice que la especie Karma es de mayor resistencia a este tipo de enfermedades foliares pues posee genes que se lo permiten, pudiendo habilitar el crecimiento para *Fusarium*.

En nuestro país la única norma que se encuentra legislada indica el control para las aflatoxinas, Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008 que permite como límite contaminante sobre grano y productos elaborados con avena, una concentración de 20 µg/Kg, si este caso se aplicara regulando fumonisinas, sobrepasarían lo establecido por la norma.

En la *European Commission Regulation*, las regulaciones establecidas para fumonisinas son las siguientes:

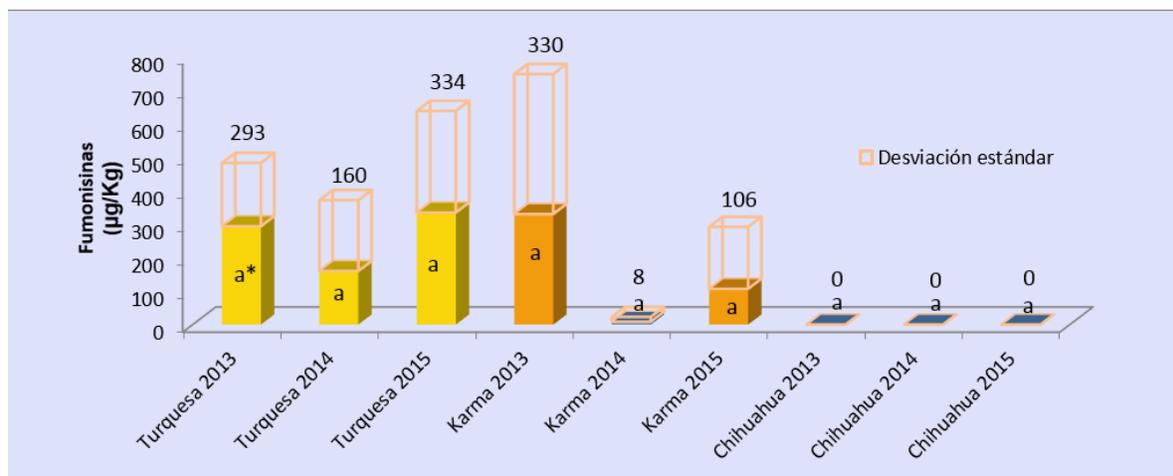
- Maíz no elaborado, excepto el destinado a molienda por vía húmeda. 400 µg/Kg.
- En maíz y alimentos a base de maíz destinados al consumo humano directo. 1000 µg/Kg.
- Cereales para el desayuno a base de maíz y aperitivos de maíz. 800 µg/Kg.

- Alimentos elaborados a base de maíz y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad. 200 µg/Kg.

Para grano entero establece un límite de 400 µg/Kg, a lo que que ninguna de las muestras de grano de avena analizadas en este proyecto sobrepasa los límites establecidos, lo que nos indica buena calidad del grano cosechado de los ciclos 2013, 2014 y 2015.

Comparando el análisis del contenido de fumonisinas del grano de avena contra los productos elaborados a base de avena, los productos presentan una concentración superior al de los granos cosechados en tres ciclos de cultivo de diferentes años.

Perkowsky (2007) nos menciona en sus resultados para toxinas de *Fusarium* (Deoxinilvalenol y Nilvalenol) realizado para granos de avena, valores de 25 y 35 µg/Kg y para granos de avena molidos valores de 36 y 30 µg/Kg, cabe mencionar que sus muestras extraídas provenían de Polonia y en la Legislación Europea establecen como límites máximos para estas dos micotoxinas 750 µg/Kg y para fumonisinas 1000 µg/Kg. Así también se han reportado (Bryla et-all, 2016) valores de 0 µg/Kg para granos de avena, y valores de 101 µg/Kg para cebada, de 342 µg/Kg para Triticale, estos resultados para fumonisinas se obtuvieron de muestras cultivadas en Polonia donde la temperatura de experimentación fue de 13 °C y se ve reflejado en la ausencia de esta micotoxina para el caso del grano de avena. El CODEX (2000) indica que suelen encontrarse niveles más altos de fumonisinas en granos producidos en las regiones más cálidas del mundo donde se desarrolle el *Fusarium*, siendo que en nuestro país las condiciones de cultivo son cálidas para el área de mayor producción y es por esto que encontramos concentraciones mayores de fumonisinas producidas por hongos que favorecen su desarrollo.



*Letras iguales no son significativamente diferentes, Tuckey-Kramer ($\alpha = 0.05$).

Figura 19. Detección de fumonisinas en grano de avena expresado en concentración.

4.3. Detección de micobiota

4.3.1. Micobiota presente en grano entero de avena.

A continuación se muestran los resultados obtenidos tras realizar el análisis de micobiota endógena, se analizaron en total 360 granos de la variedad Turquesa que presentó mayores concentraciones de fumonisinas, de los cuales 122 (correspondiente al 34%) resultaron libres de contaminación con algún tipo de hongo o levadura, en cambio 238 granos (correspondiente al 66%) sí se detectó la presencia de algún tipo de hongo o levadura (Figura 20).

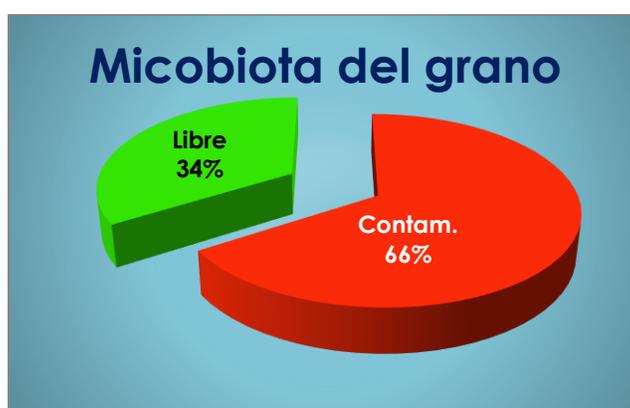


Figura 20. Porcentaje general de la micobiota para grano entero de avena

4.3.2. Detección de micobiota para grano en medio de cultivo PDA.

En la prueba de determinación de los hongos presentes en granos de avena, realizada en medio de cultivo agar papa dextrosa, se encontró que en el ciclo del cultivo 2014 el hongo de predominio fue *Alternaria* con un total de 6 aislamientos, una frecuencia de aislamiento del 100 % y una densidad relativa del 54.5 %, este resultado sobrepasa con lo reportado por Graviłova (2016), reportó hasta 48% de densidad relativa para este género. Otros hongos determinados con menor número de aislamientos, fueron *Cladosporium* (1 UFC/g), *Epicoccum* (1 UFC/g), *Fusarium* (1 UFC/g) y *Helminthosporium* (2 UFC/g) entre los más abundantes. Lo cual nos indica que estas muestras fueron de reciente cosecha o mantenidas en buenas condiciones de almacenamiento que ya formaban parte de la micobiota endógena. Con base en los resultados de fumonisinas, el género *Fusarium* está presente en los tres ciclos de cultivo, seguido del *Helminthosporium* con 2 UFC/g, 33.3 % en frecuencia de aislamiento y 18.18 % en su densidad relativa, así también se ha reportado a

este hongo en hojas del cultivo de avena (Leyva-mir *et-al*, 2013), tras la presencia de *Alternaria* (72%) y *Curvularia* (27%).

En cambio, Gravrilova (2016) reporta una densidad relativa de *Alternaria* para granos de avena de 48 % y el resultado aquí reportado en densidad relativa para el ciclo de cultivo 2014 (54.5%), sobrepasa este porcentaje, también el autor reporta para *Fusarium* 18.7 % en densidad relativa, comparándolo con el porcentaje de densidad relativa en los granos de avena, los valores oscilan dentro de ese valor (4.7 a 9.0 %) respectivamente.

El ciclo de cultivo 2013, el género *Aspergillus sección nigri* y *Tubercularia* presentaron valores idénticos en No. De aislamientos (4 UFC/g), frecuencia de aislamiento (33.33 %) y densidad relativa (19.05 %), clasificados por Moreno (1988) como hongos de deterioro avanzado, a lo cual probablemente este ciclo de cultivo tuvo un periodo largo de almacenamiento. Otros hongos que tuvieron una presencia importante durante este ciclo de cultivo fueron *Eurotium* (1 UFC/g), *Aspergillus sección flavi* (2 UFC/g), *Aspergillus spp.* (1 UFC/g), *Penicillium* (1 UFC/g), *Mucor* (1 UFC/g) y *Levaduras* (4 UFC/g). Para el ciclo 2015 el hongo con mayor presencia fue *Mucor* con 3 UFC/g, una frecuencia de aislamiento de 100% y una densidad relativa del 12% donde los hongos que también tuvieron presencia fueron *Alternaria* (2 UFC/g), *Cladosporium* (1 UFC/g), *Epicoccum* (2 UFC/g), *Penicillium* (1 UFC/g), *Rizhopus* (1 UFC/g) y *Chaetomium* (1 UFC/g) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Micobiota presente en granos de avena en medio de cultivo PDA.

Género	No. de aislamientos (UFC/g)			Frecuencia de aislamiento (%)			Densidad relativa (%)		
	a*	b	c	a	b	c	a	b	c
<i>Alternaria</i>	1.00	6.00	2.00	33.33	100.00	66.67	4.76	54.55	8.00
<i>Cladosporium</i>	0.00	1.00	1.00	0.00	66.67	33.33	0.00	9.09	4.00
<i>Epicoccum</i>	0.00	1.00	2.00	0.00	33.33	33.33	0.00	9.09	8.00
<i>Fusarium</i>	1.00	1.00	2.00	33.33	33.33	66.67	4.76	9.09	8.00
<i>Helmintosporium</i>	1.00	2.00	0.00	33.33	33.33	0.00	4.76	18.18	0.00
<i>Eurotium</i>	1.00	0.00	1.00	33.33	0.00	0.00	4.76	0.00	4.00
<i>A. secc. flavi</i>	2.00	0.00	2.00	33.33	0.00	66.67	9.52	0.00	8.00
<i>A. secc. nigri</i>	4.00	0.00	1.00	33.33	0.00	33.33	19.05	0.00	4.00
<i>Aspergillus spp.</i>	1.00	0.00	0.00	33.33	0.00	0.00	4.76	0.00	0.00
<i>Penicillium</i>	1.00	0.00	1.00	33.33	0.00	33.33	4.76	0.00	4.00
<i>Mucor</i>	1.00	0.00	3.00	33.33	0.00	100.00	4.76	0.00	12.00
<i>Rizhopus</i>	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	33.33	0.00	0.00	4.00
<i>Chaetomium</i>	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	33.33	0.00	0.00	4.00
<i>Levaduras</i>	4.00	0.00	8.00	100.00	0.00	100.00	19.05	0.00	32.00
<i>Tubercularia</i>	4.00	0.00	0.00	33.33	0.00	0.00	19.05	0.00	0.00
	21.00	11.00	25.00				100.00	100.00	100.00

*(a) Ciclo año 2013; (b) Ciclo año 2014; (c) Ciclo año 2015.

4.3.3. Determinación de micobiota para grano en medio de cultivo MSA.

En la determinación de los hongos presentes en grano de avena realizado en medio de cultivo MSA (Cuadro 7), se encontró que en el ciclo 2013 el género que mayor presencia tuvo fue *Eurotium* con un total de 9 UFC/g, 100 % en frecuencia de aislamiento y 60 % en densidad relativa, seguido en orden de importancia por los géneros *Aspergillus sección nigri*, *Aspergillus sección flavi* y *Penicillium*. Para el ciclo 2014 el género que mayor presencia tuvo fue el género *Eurotium* con 10 UFC/g, una frecuencia de aislamiento del 100% y una densidad relativa del 62 %. Siguiendo en orden de primordialidad conforme al número de aislamientos, se tuvo la presencia de *Alternaria* y *Epicoccum*. Para el ciclo 2015 el hongo que más presencia tuvo fue el género *Eurotium* con un total de 7 UFC en su aislamiento, una frecuencia de aislamiento del 100 % y una densidad relativa de 38.8 %, siguiéndole en orden de importancia por el número de aislamientos, se encontraron los géneros *Mucor*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus sección flavi*, *Aspergillus sección nigri*, *Aspergillus spp.* y *Penicillium*.

Cuadro 7. Micobiota presente en granos de avena en medio de cultivo MSA.

Género	No. de aislamientos (UFC/g)			Frecuencia de aislamiento (%)			Densidad relativa (%)		
	*a	b	c	a	b	c	a	b	c
<i>Alternaria</i>	0.00	5.00	3.00	0.00	100.00	33.33	0.00	31.25	16.67
<i>Cladosporium</i>	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	33.33	0.00	0.00	5.56
<i>Epicoccum</i>	0.00	1.00	0.00	0.00	66.67	0.00	0.00	6.25	0.00
<i>Fusarium</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Helmintosporium</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Eurotium</i>	9.00	10.00	7.00	100.00	100.00	100.00	60.00	62.50	38.89
<i>A. secc. flavi</i>	4.00	0.00	1.00	100.00	0.00	66.67	26.67	0.00	5.56
<i>A. secc. nigri</i>	1.00	0.00	1.00	33.33	0.00	33.33	6.67	0.00	5.56
<i>Aspergillus spp.</i>	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	33.33	0.00	0.00	5.56
<i>Penicillium</i>	1.00	0.00	1.00	66.67	0.00	33.33	6.67	0.00	5.56
<i>Mucor</i>	0.00	0.00	3.00	0.00	0.00	66.67	0.00	0.00	16.67
	15.00	16.00	18.00				100.00	100.00	100.00

1*(a) Ciclo año 2013; (b) Ciclo año 2014; (c) Ciclo año 2015.

Agrupando el análisis realizado al grano de avena en ambos medios de cultivo (PDA y MSA), se encontraron 6 de los 7 géneros reportados por Gavrilova (2016) como patógenos del cultivo de avena, los cuales son *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium* y *Penicillium*, de los cuales *Alternaria*, *Aspergillus spp.*, *Cladosporium*, *Fusarium* y *Penicillium* son reportados por Martínez (1997) y Badiale (2015). Martínez reporta además al género *Curvularia* en sus estudios realizados para grano de sorgo, además Badiale reporta al género *Epicoccum* en micobiota realizada a granos de trigo cultivados en Brasil.

Claramente se observa un crecimiento mayor de los hongos de campo (*Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, y *Helminthosporium*) en el medio de crecimiento de PDA pues sus condiciones están dadas por una mayor cantidad de carbohidratos a una humedad adecuada para propiciar su desarrollo, sólo el género *Alternaria* tuvo un crecimiento casi similar en ambos medios (Figura 21 - 23).

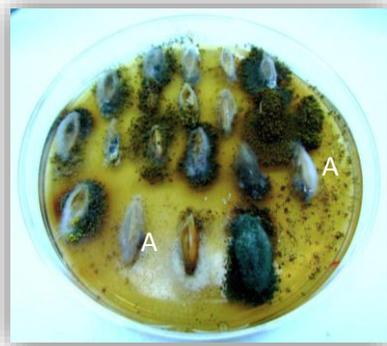


Figura 21. Micobiota medio MSA en grano de avena con presencia del género: (A) *Fusarium* (Propia autoría, 2016).

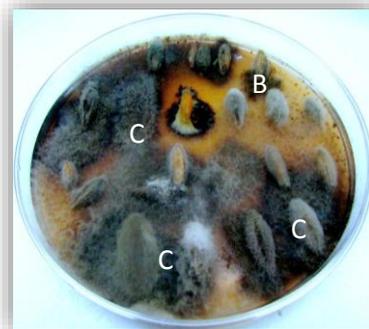


Figura 22. Micobiota medio MSA en grano de avena con presencia del género: (B) *Aspergillus secc. nigri*; (C) *Alternaria* (Propia autoría, 2016).

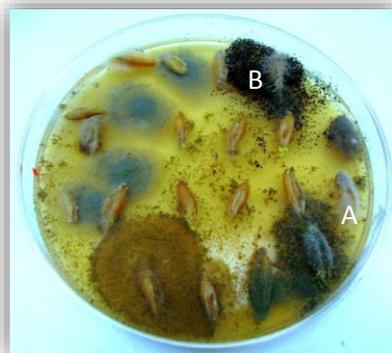


Figura 23. Micobiota medio MSA en grano de avena con presencia del género: (A) *Fusarium*; (B) *Aspergillus secc. nigri* (Propia autoría, 2016).

El género *Penicillium* no se presentó en las muestras del ciclo 2014 ni tampoco tuvo presencia de otros hongos representativos de almacén como son los géneros *Aspergillus secc. flavi*, *Aspergillus secc. nigri*, *Aspergillus spp.*, *Mucor*, *Rizhopus*, a excepción del *Eurotium*, nos demuestra que la cosecha de este ciclo fue almacenada en condiciones adecuadas lo cual evitó el desarrollo de estos hongos.

Para los tres ciclos de cultivo el género *Eurotium* (Figura 24), fue el que se encontró mayormente sembrado en ambos medios sumando un total para el ciclo 2013 de 10 UFC/g, para el ciclo 2014 un total de 10 UFC/g y para el ciclo 2015 8 UFC/g. Agrupándolos

de la misma forma, el género *Alternaria* se presentó con 1 UFC/g para el ciclo 2013, 11 UFC/g para el ciclo 2014 y 5 UFC/g para el ciclo 2015. El género de *Fusarium* sólo se encuentra presente en el medio de cultivo PDA con al menos 1 UFC/g en cada ciclo, donde en el ciclo de cultivo 2015 presentó 2 UFC/g. Así mismo el género *Aspergillus sección nigri* presentó una sumatoria total de 5 UFC/g para el ciclo 2013, una suma total de 0 UFC/g para el ciclo 2014 y una sumatoria de 2 UFC/g para el ciclo 2015. Comparando los resultados de las fumonisinas para grano de avena de la especie Turquesa contra los de su microbiota para ambos medios de cultivo, se tiene la presencia de los tres últimos géneros previamente mencionados que también son productores de fumonisinas (Badiale, 2015), pero a pesar de que en el ciclo de cultivo del 2014 el género *Alternaria* es el más abundante, los niveles de fumonisinas en el ciclo 2014 son los más bajos, y a pesar de que el género *Aspergillus sección nigri* es el de más presencia para el ciclo de cultivo 2013, sus niveles de fumonisinas no son los más altos, lo que demuestra que el género *Fusarium* produce más fumonisinas que *Alternaria* o *Aspergillus sección nigri*, pues en comparación y frecuencia relativa, colocan al ciclo 2015 de la variedad Turquesa como el de mayor contaminación por fumonisinas (Figura 19).



Figura 24. Género *Eurotium* presente en el grano de avena con sus cleistotecios como parte de su reproducción sexual (Propia autoría, 2016).

La figura 20 resulta de gran utilidad para observar la cantidad de granos infectados, sin embargo, es de gran importancia señalar la frecuencia de aparición de los hongos en cada una de las muestras analizadas. El cuadro 7 y 8 nos muestra la frecuencia de aparición de cada uno de los géneros detectados durante la evaluación de la microbiota endógena en las 32 muestras de grano de avena analizadas conforme a la NOM-111-SSA1-1994 en su método para la cuantificación de mohos y levaduras.

4.4. Detección de micobiota para productos comerciales en medio de cultivo PDA.

4.4.1. Micobiota para hojuelas en PDA.

En la prueba de determinación de los hongos presentes en productos de avena, realizada en medio de cultivo PDA para avena en hojuelas (*Cuadro 8*) se encontró que en la muestra Qui predominó el género *Fusarium* con 6 UFC/g, una frecuencia de aislamiento de 33.3 % y una densidad relativa de 21.4 %, por orden de aparición sigue el género *Mucor* (4 UFC/g), *Aspergillus sección flavi* (2 UFC/g), *Eurotium* (1 UFC/g), *Penicillium* (1 UFC/g) y *Rizhopus* (1 UFC/g). La muestra Oaq presentó 1 UFC/g del género *Aspergillus spp.* (1 UFC/g), *Penicillium* (1 UFC/g) y *Rizhopus* (1 UFC/g), estos son hongos indicadores de malas prácticas de almacenamiento. La muestra Oagr presentó a *Aspergillus sección flavi* con 8 UFC, una frecuencia de aislamiento de 66.7 % y una densidad relativa del 18.0 %, presentando además al *Aspergillus spp.* (6 UFC/g), *Eurotium* (2 UFC/g), *Fusarium* (1 UFC/g) y *Mucor* (1 UFC/g). La muestra Bra sólo presentó al género *Rizhopus* con 1 UFC/g, una frecuencia de aislamiento de 33.3 % y una densidad relativa de 4 % lo que la hace la muestra de avena en hojuelas más libre de hongos tanto de campo, como de almacén. Las levaduras estuvieron presentes en todas las muestras de avena en hojuelas.

Cuadro 8. Micobiota en hojuelas de avena en medio de cultivo PDA.

Género	No. de aislamientos (UFC/g)				Frecuencia de aislamiento (%)				Densidad relativa (%)			
	1	2	10	11	1	2	10	11	1	2	10	11
<i>Fusarium</i>	6.0	0.0	1.0	0.0	33.3	0.0	33.3	0.0	21.4	0.0	2.3	0.0
<i>Eurotium</i>	1.0	0.0	2.0	0.0	33.3	0.0	66.7	66.7	3.6	0.0	4.7	0.0
<i>A. flavi</i>	2.0	0.0	8	0.0	33.3	0.0	66.7	66.7	7.1	0.0	18.0	0.0
<i>A. secc. nigri</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Aspergillus spp.</i>	0	1	6	0	0.0	33.3	100.0	100.0	0.0	6.7	14.1	0.0
<i>Penicillium</i>	1	1.00	0	0	33.3	33.3	0.0	0.0	3.6	6.7	0.0	0.0
<i>Mucor</i>	4.00	0.00	1.00	0	33.3	0.0	33.3	33.3	14.3	0.0	2.3	0.0
<i>Rizhopus</i>	1	1	0	1	66.7	33.3	0.0	33.3	3.6	6.7	0.0	4.0
<i>Levaduras</i>	13.0	12.0	25.0	24.0	100.0	100.0	66.7	100.0	46.4	80.0	58.6	96.0
	28.0	15.0	43.0	25.0					100.0	100.0	100.0	100.0

Muestras: (1) Qui; (2) Oaq; (10) Oagr; (11) Bra.

4.4.2. Micobiota para avena instantánea en PDA.

En el análisis de la micobiota para avenas instantáneas como producto (Cuadro 9) se obtuvieron en la muestra de avena con arándano (AIGA) los géneros *Eurotium*, *Aspergillus sección flavi* y *Penicillium* con un número de aislamientos de 1 UFC/g respectivamente de cada género, una frecuencia de aislamiento de 33.3 % y una densidad relativa de 4 %. La muestra de avena con nuez de la segunda marca presentó sólo al género *Penicillium* con un número de aislamiento de 1 UFC/g, una frecuencia de aislamiento de 33.3 % y una densidad relativa de 5.9 % pero sus levaduras representan un 94.1 % de su densidad relativa en muestra por lo que pudieron haber inhibido el crecimiento de otros hongos, finalmente es la muestra de avena instantánea más libre de hongos patógenos. La muestra de avena instantánea con nuez de la marca 1 (AIGN) presentó a *Cladosporium* y *Penicillium* con un número de aislamiento de 4 UFC/g, una frecuencia de aislamiento de 66.7 y 33.3 %, con una densidad relativa de 8.9 %, el resto le corresponde a la presencia de levaduras. La muestra de la marca 2 con nuez (AIQN) presenta a *Aspergillus sección nigri* como principal contaminante con 14 UFC/g como número de aislamiento, una frecuencia de aislamiento de 33.3 % y una densidad relativa de 28%, seguido del género *Penicillium* en orden de importancia, así mismo, todas las muestras presentaron levaduras.

Cuadro 9. Micobiota en avena instantánea en medio de cultivo PDA.

Género	No. de aislamientos PDA (UFC/g)				Frecuencia de aislamiento (%)				Densidad relativa (%)			
	4	5	6	7	4	5	6	7	4	5	6	7
<i>Cladosporium</i>	0.0	0.0	4.0	0.0	0.0	0.0	66.7	0.0	0.0	0.0	8.9	0.0
<i>Eurotium</i>	1.0	0.0	0.0	0.0	33.3	33.3	0.0	0.0	4.0	0.0	0.0	0.0
<i>A. secc. flavi</i>	1.0	0.0	0.0	0.0	33.3	33.3	0.0	0.0	4.0	0.0	0.0	0.0
<i>A.secc. Nigri</i>	0.0	0.0	0.0	14.0	0.0	0.0	0.0	33.3	0.0	0.0	0.0	28.6
<i>A. ochraceus</i>	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.4	0.0
<i>Penicillium</i>	1.0	1.0	4.0	1.0	33.3	33.3	33.3	33.3	4.0	5.9	8.9	2.0
<i>Rizhopus</i>	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	33.3	0.0	0.0	0.0	2.2	0.0
<i>Levaduras</i>	22.0	16.0	34.0	34.0	100.0	100.0	100.0	100.0	88.0	94.1	75.6	69.4
	25.0	17.0	45.0	49.0					100.0	100.0	100.0	100.0

Muestras: (4) AIGA; (5) AIQF; (6) AIGN; (7) AIQN.

La incidencia de contaminación del maíz por las fumonisinas se ve exacerbada por el estilo de vida endofítica del hongo, lo que permite que el hongo y su toxina estén presentes en las plantas de maíz y del grano almacenado en ausencia de síntomas de enfermedad visibles (Chen, 2012). Esto se homologa con granos de avena debido a que este grano tiene características de un cereal y son similares en cuanto a composición proteica, de hidratos de carbono, sales minerales, vitaminas y fibra. Los hongos endofíticos, Barrios (2006) los define como microorganismos que colonizan los tejidos u órganos internos de una planta sin causar ningún tipo de daño a la misma, la gran mayoría son ascomicetos y está presente la mayor parte de su ciclo de vida dentro de la planta, pudiendo alterar la fisiología promoviendo el crecimiento e incrementando la resistencia al estrés causado por factores bióticos o abióticos. Los géneros de hongos endofíticos más conocidos son: *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Glomerella*, *Phialophora*, *Phoma*, *Trichoderma*, *Verticillium* y *Xylaria*.

4.4.3. Micobiota para cereal para desayuno en PDA.

En la determinación de hongos presentes en el cereal de trigo y avena (Cuadro 10) se encontró en la muestra de aritos de avena de grano entero (Oh!) al género *Fusarium* con un número de aislamientos de 1 UFC/g, frecuencia de aislamiento de 33.3 % y densidad relativa de 3.4 %, en orden de importancia estuvieron presentes en estas muestras el *Aspergillus spp.* (1 UFC/g), *Penicillium* (1 UFC/g), *Rizhopus* (1 UFC/g), *Trichotecium* (1 UFC/g) y *Levaduras* (24 UFC/g). En la muestra de hojuelas de trigo y avena (Fla) sólo se encontró *Rizhopus* con un no. de aislamiento de 1 UFC/g, una frecuencia de aislamiento de 20 % y una densidad relativa de 10 %, así como *Levaduras* (Figura 25 y 26).

Cuadro 10. Micobiota en cereal de trigo y avena en medio de cultivo PDA.

Género	No. de aislamientos PDA (UFC/g)		Frecuencia de Aislamiento (%)		Densidad relativa (%)	
	3	13	3	13	3	13
<i>Fusarium</i>	1.0	0.0	33.3	0.0	3.4	0.0
<i>Eurotium</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Aspergillus spp.</i>	1.0	0.0	33.3	0.0	3.4	0.0
<i>Penicillium</i>	1.0	0.0	33.3	0.0	3.4	0.0
<i>Rizhopus</i>	1.0	1.0	33.3	20.0	3.4	10.0
<i>Trichotecium</i>	1.0	0.0	33.3	0.0	3.4	0.0
<i>Levaduras</i>	24.0	9.0	100.0	100.0	82.8	90.0
	29.0	10.0			100.0	100.0

Muestras: (3) Oh!; (13) Fla.



Figura 25. Hojuelas de trigo y avena con presencia de Levaduras y *Rizhopus* (Propia autoría, 2016).

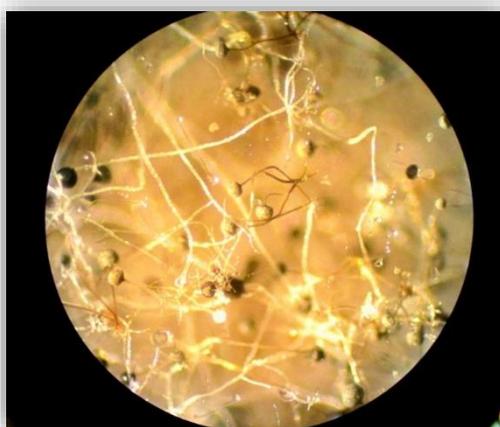


Figura 26. Género *Rizhopus* encontrado en la micobiota de productos de avena (Propia autoría, 2016).

4.4.4. Micobiota para cereal infantil de desayuno en PDA.

En la determinación de micobiota para cereales infantiles (*Cuadro 11*), se encontró en la muestra de cereal infantil Nes levaduras con un número de aislamiento de 481 UFC/g, una frecuencia de aislamiento del 100% y una densidad relativa del 100 %, en cambio para el cereal infantil de la marca (Grbr) se hallaron géneros como *Penicillium* con un número de aislamiento de 2 UFC/g, una frecuencia de aislamiento de 66.7% y una densidad

relativa de 0.5 %, siguiendo el orden de importancia se encontró al género *Mucor* (1 UFC/g) y *Levaduras* (372 UFC/g).

Cuadro 11. Micobiota en cereal infantil en medio de cultivo PDA.

Género	No. aislamientos PDA (UFC/g)		Frecuencia de Aislamiento (%)		Densidad relativa (%)	
	8	9	8	9	8	9
<i>Penicillium</i>	0.0	2.0	0.0	66.7	0.0	0.5
<i>Mucor</i>	0.0	1.0	0.0	33.3	0.0	0.3
<i>Levaduras</i>	481.0	372.0	100.0	100.0	100.0	99.2
	481.0	375.0			100.0	100.0

Muestras: (8) Nes; (9) Grbr.

4.4.5. Micobiota para galletas en PDA.

El cuadro 12 nos muestra la micobiota presente en galletas de avena de dos marcas de origen distinto, una marca canadiense y una marca mexicana, ambas sólo muestran la presencia de las *levaduras* que forman parte de su ingrediente principal, la marca Voo presentó 18 UFC/g que la marca Grfr, con 11 UFC/g, por lo tanto la frecuencia de aislamiento y densidad relativa para ambas muestras, fue del 100 %.

Cuadro 12. Micobiota en galletas de avena en medio de cultivo PDA.

Género	Micobiota galletas de avena PDA (UFC/g)		Frecuencia de aislamiento (%)		Densidad relativa (%)	
	14	15	14	15	14	15
<i>Levaduras</i>	18.0	11.0	100	100	100	100

Muestras: (14) Voo; (15) Grfr.

4.4.6. Micobiota para granola de avena en PDA.

El cuadro 13 nos muestra la micobiota realizada a avena de granola, que también sólo presentó *levaduras* con 31 UFC/g y por lo tanto una frecuencia de aislamiento y una densidad relativa del 100 %, Boukraá (2007) realizó estudios sobre la acción antifúngica que tuvo la miel sobre medios de cultivo con almidón evitando el crecimiento de *Candida*

albicans y *Aspergillus niger*, probablemente la miel que recubre a este tipo de semillas en avena tipo granola refuerza el poder fungistático de este producto.

Cuadro 13. Micobiota a avena de granola en medio de cultivo PDA.

	No. de aislamientos granola PDA (UFC/g)	Frecuencia de aislamiento (%)	Densidad relativa (%)
Género	12	12	12
<i>Levaduras</i>	31.3	100	100

Muestra: (12) Max.

4.5. Detección de micobiota para productos de avena en medio de cultivo MSA.

4.5.1. Micobiota para hojuelas de avena en MSA.

En la prueba de determinación de micobiota para hojuelas de avena en medio de cultivo MSA (Cuadro 14), se encontró que para la muestra de la marca Qui el género que predominó fue *Eurotium* con un número de aislamientos de 14 UFC/g, con una frecuencia de aislamiento de 66.7 %, y una densidad relativa de 82.4 %, siguiendo por orden de aparición, se encontraron al género *Aspergillus spp.* (4 UFC/g), *Aspergillus ochraceus* (2 UFC/g), *Aspergillus sección flavi* (2 UFC/g), *Aspergillus candidus* (2 UFC/g) y *Rizhopus* (2 UFC/g). En la muestra Oaq se encontró a *Eurotium* como género predominante con un número total de aislamientos de 7 UFC/g, una frecuencia de aislamiento de 66.7 % y una densidad relativa de 36.8 %, seguido de los géneros *Penicillium* (4 UFC/g), *Rizhopus* (4 UFC/g), *Aspergillus ochraceus* (2 UFC/g) y *Aspergillus candidus* (2 UFC/g). Para la muestra de avena Oagr el género que más números de aislamientos tuvo fue *Aspergillus sección flavi*, presentando 9 UFC/g, 66.7 % en frecuencia de aislamiento y una densidad relativa de 40.9 %, seguido de los géneros *Aspergillus ochraceus* (7 UFC/g), *Eurotium* (7 UFC/g), *Aspergillus spp.* (7 UFC/g) y *Mucor* (7 UFC/g). La avena en hojuela Bra sólo se presentaron a los géneros *Aspergillus spp.* con un número de aislamiento de 2 UFC/g, una frecuencia de aislamiento del 100 % y una densidad relativa de 2.1, así como al género *Penicillium*. Todas las muestras presentaron *Levaduras* a excepción de la muestra Oaq que en su defecto presentó la mayor cantidad de *Penicillium* (4 UFC/g). Por el tipo de medio de cultivo rico en sales, sólo se pudo observar el crecimiento de hongos de almacén.

Cuadro 14. Micobiota para hojuelas de avena en medio de cultivo MSA.

Género	No. de aislamientos (UFC/g)				Frecuencia de aislamiento (%)				Densidad relativa (%)			
	1	2	10	11	1	2	10	11	1	2	10	11
<i>A. ochraceus</i>	2.0	2.0	7.0	0.0	33.3	33.3	33.3	33.3	11.8	10.5	31.8	0.0
<i>Eurotium</i>	14.0	7.0	7.0	0.0	66.7	66.7	66.7	66.7	82.4	36.8	31.8	0.0
<i>A.secc. flavi</i>	2.0	0.0	9.0	0.0	33.3	0.0	66.7	66.7	11.8	0.0	40.9	0.0
<i>A. candidus</i>	2.0	2.0	0.0	0.0	33.3	0.0	0.0	0.0	11.8	10.5	0.0	0.0
<i>Aspergillus spp.</i>	4.0	0.0	7.0	2.0	33.3	0.0	100.0	100.0	23.5	0.0	31.8	2.1
<i>Penicillium</i>	0.0	4.0	0.0	2.0	0.0	33.3	0.0	33.3	0.0	21.1	0.0	2.1
<i>Mucor</i>	0.0	0.0	7.0	0.0	0.0	0.0	33.3	33.3	0.0	0.0	31.8	0.0
<i>Rizhopus</i>	2.0	4.0	0.0	0.0	33.3	66.7	0.0	0.0	11.8	21.1	0.0	0.0
<i>Levaduras</i>	17.0	0.0	22.0	94.0	66.7	0.0	66.7	100.0	100.0	0.0	100.0	100.0
	43.0	19.0	59.0	98.0					100.0	100.0	100.0	100.0

Muestras: (1) Qui; (2) Oaq; (10) Oagr; (11) Bra.

4.5.2. Micobiota para avena instantánea en MSA

En la determinación de hongos realizado a avenas instantáneas en medio de cultivo MSA (Cuadro 15) se encontró que para la muestra con arándanos AIGA sólo estuvo presente el género *Eurotium* con un número de aislamiento de 4 UFC/g, una frecuencia de aislamiento de 33.3 % y una densidad relativa de 11.8 % además de *Levaduras*. La muestra de la segunda marca que contiene fresas (AIQF) no mostró *Levaduras* en su micobiota pero si resultados iguales para los géneros *Cladosporium* (2 UFC/g) y *Aspergillus sección flavi*, con un número de aislamientos de 2 UFC/g, 33.3 % en frecuencia de aislamiento y 50 % como su densidad relativa. La muestra de la marca AIGN con nueces presentó al género *Eurotium* como el predominante con un número de aislamiento de 15 UFC/g, frecuencia de aislamiento de 33.3 % y densidad relativa de 62.5 %, por orden de presencia también se presentaron los géneros *Aspergillus ocraceus* (2 UFC/g), *Cladosporium* (2 UFC/g) y *Levaduras* (Figura 25). En cambio la muestra de la marca AIQN, con nueces, estuvo más libre de hongos contaminantes pues sólo presentó al género *Penicillium* con no. de aislamiento de 2 UFC/g, frecuencia de aislamiento de 33.3 % y densidad relativa de 18.2 % además de *Levaduras*.

Cuadro 15. Micobiota en avena instantánea en medio de cultivo MSA

Género	No. de aislamientos MSA (UFC/g)				Frecuencia de aislamiento (%)				Densidad relativa (%)			
	4	5	6	7	4	5	6	7	4	5	6	7
<i>A. ochraceus</i>	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	33.3	0.0	0.0	0.0	8.3	0.0
<i>Cladosporium</i>	0.0	2.0	2.0	0.0	0.0	33.3	33.3	0.0	0.0	50.0	8.3	0.0
<i>Eurotium</i>	4.0	0.0	15.0	0.0	33.3	0.0	33.3	0.0	11.8	0.0	62.5	0.0
<i>A. flavi</i>	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	33.3	0.0	0.0	0.0	50.0	0.0	0.0
<i>Penicillium</i>	0.0	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	33.3	0.0	0.0	0.0	18.2
<i>Levaduras</i>	30.0	0.0	5.0	9.0	66.7	0.0	33.3	66.7	88.2	0.0	20.8	81.8
	34.0	4.0	24.0	11.0					100.0	100.0	100.0	100.0

Muestras: (4) AIGA; (5) AIQF; (6) AIGN; (7) AIQN.



Figura 22. Presencia de *Aspergillus ochraceus* y *Levaduras* en muestras de avena instantánea en medio de cultivo MSA (Propia autoría, 2016).

4.5.3. Micobiota para cereal de desayuno en MSA.

En el análisis de la micobiota para cereal de trigo y avena (Cuadro 16), la muestra de aritos de trigo y avena (Oh!) presentó al género *Rizhopus* como el predominante con 3 UFC/g como número de aislamiento, frecuencia de aislamiento de 66.7 % y densidad relativa de 20 %, seguido de *Cladosporium* (2 UFC/g) y *Levaduras* (12 UFC/g). La muestra

de hojuelas de trigo y avena (Fla) presentó también al hongo *Rizhopus* como principal contaminante con un número de aislamiento de 3 UFC/g, frecuencia de aislamiento de 40 % y una densidad relativa del 17.6 %, seguido del hongo *Eurotium* (1 UFC/g) y *Levaduras* (13 UFC/g). En un estudio de microbiota realizada a cereal para desayuno a base de maíz (Ismail *et all*, 2008), se reportó al género *Cladosporium* con 35 UFC/g, así como la presencia de *Aspergillus sección flavi* (40 UFC/g), *Fusarium* (1550 UFC/g) y *Levaduras* (25 UFC/g), en cambio nuestros resultados obtenidos (Cuadro 10) para estos géneros fueron *Aspergillus spp.* (1 UFC/g), *Fusarium* (1 UFC/g) y *Levaduras* (24 UFC/g).

Cuadro 16. Micobiota en cereal de trigo y avena en medio de cultivo MSA.

Género	No. de aislamiento (UFC/g)		Frecuencia de aislamiento (%)		Densidad relativa (%)	
	3	13	3	13	3	13
<i>Cladosporium</i>	2.0	0.0	33.3	0	10.0	0.0
<i>Eurotium</i>	0.0	1.0	0.0	20	0.0	5.9
<i>Rizhopus</i>	4.0	3.0	66.7	40	20.0	17.6
<i>Levaduras</i>	12.0	13.0	100.0	60	70.0	76.5
	18.0	17.0			100.0	100.0

Muestras: (3) Oh!; (13) Fla.

4.5.4. Micobiota para cereal infantil de desayuno en MSA.

Para el análisis de microbiota en cereales infantiles (Cuadro17), la muestra Nes sólo presentó levaduras con 8.3 UFC/g, una frecuencia de aislamiento de 66.7 % y una densidad relativa de 100 %, de lo contrario a la muestra Grbr que no presentó levaduras en su microbiota pero sí hongos de almacén representativos como lo son *Cladosporium* con 4 UFC/g, una frecuencia de aislamiento de 33.3 % y una densidad relativa de 66.7 %, en orden de aparición por número de aislamientos, esta muestra presentó también al género *Penicillium*. El estudio realizado por Ismail (*et all*, 2008), fue realizado primordialmente para alimentos infantiles de distintos orígenes y reportó para cereal instantáneo cuya composición es dada por maíz, avena y cebada, al género *Cladosporium* con una frecuencia de aislamiento del 40 % además de *Levaduras* con una frecuencia de aislamiento de 40 %, así mismo nos reporta al género *Fusarium* para cereal de maíz, snack de trigo con extracto de malta y galletas de avena.

Cuadro 17. Micobiota en cereal de avena infantil en medio de cultivo MSA.

Género	No. de aislamientos (UFC/g)		Frecuencia de aislamiento (%)		Densidad relativa (%)	
	8	9	8	9	8	9
<i>Penicillium</i>	0.0	2.0	0.0	33.3	0.0	33.3
<i>Cladosporium</i>	0.0	4.0	0.0	33.3	0.0	66.7
<i>Levaduras</i>	9.0	0.0	66.7	0.0	100.0	0.0
	9.0	6.0			100	100

Muestras: (8) Nes; (9) Grbr.

4.5.5. Micobiota para galletas en MSA.

En el análisis de los hongos presentes para galletas de avena (*Cuadro 18*), la marca 1 (Voo) presentó al género *Aspergillus sección flavi* con 4 UFC/g, 33.3 % en frecuencia de aislamiento y 7.1 % como densidad relativa, el resto corresponde a la presencia de levaduras, así pues, la marca 2 (Grfr) no presentó algún género fúngico, pero sí levaduras. Los resultados de la marca Voo coinciden con estudios previos (Ismail et al, 2008) argumentando que mucho de los ingredientes que los componen como harina de maíz, harina de trigo, harina de avena y de cebada, inclusive la leche en polvo, son suficientes para propiciar el desarrollo de hongos en productos como pan biscuit, alimentos infantiles, diversos cereales y leche en polvo, provocando así una contaminación del producto final con las micotoxinas generadas que difícilmente se pueden eliminar.

Cuadro 18. Micobiota en galletas de avena en medio de cultivo MSA.

Género	Micobiota galletas de avena MSA (UFC/g)		Frecuencia de aislamiento (%)		Densidad relativa (%)	
	14	15	14	15	14	15
<i>Aspergillus secc. flavi</i>	4.0	0.0	33.3	0	7.1	0.0
<i>Levaduras</i>	44.0	30.0	100	100	92.9	100.0
	48.0	30.0			100.0	100.0

Muestras: (14) Voo; (15) Grfr.

4.5.6. Micobiota para granola en MSA.

La micobiota realizada a avena de granola en medio de cultivo MSA (*Cuadro 19*) presentó la presencia mayoritaria de *Levaduras* con 75 UFC/g, una frecuencia de aislamiento del 100 % y una densidad relativa de 97.8 %, seguida del hongo *Penicillium* que logró presentarse a pesar del poder antifúngico de la miel.

Cuadro 19. Micobiota a avena de granola en medio de cultivo MSA.

	Micobiota avena-granola MSA (UFC/g)	Frecuencia de aislamiento (%)	Densidad relativa (%)
Género	12	12	12
<i>Penicillium</i>	1.7	33.3	2.2
<i>Levaduras</i>	75.0	100.0	97.8
	76.7		100

Muestra: (12) Max.

Conclusiones

- f* Las muestras del ciclo 2013 coinciden con las muestras del ciclo 2015 en la variedad de grano Turquesa ante la presencia de del género *Eurotium*, en cambio, para el ciclo de cultivo 2014, el género predominante fue *Alternaria*, como género principal en hongos de almacén.
- f* El hongo *Fusarium* estuvo presente en los ciclos de los tres años de cultivo, pero tuvo mayor presencia en el ciclo del año 2015 a lo cual coincide con una mayor concentración de fumonisinas para esa muestra.
- f* Otros géneros encontrados en avena y productos fueron *Aspergillus sección nigri*, *Mucor*, *Aspergillus sección flavi*, *Cladosporium*, *Tubercularia*, *Helminthosporium* y *Epicoccum*.
- f* Al encontrar la presencia de los hongos como *Alternaria* y *Aspergillus secc. niger*, podemos decir que muy probablemente también produjeron fumonisinas en los granos y productos elaborados con avena.
- f* El desarrollo de levaduras involucró una competencia en el crecimiento de hongos para determinadas muestras lo cual impidió ser detectados dentro de la micobiota.
- f* Es importante determinar fumonisinas en alimentos así como identificar su micobiota, pues no sólo nos ayuda a identificar la calidad sanitaria de las muestras, sino también a comparar el nivel de contaminación que puede existir desde la cosecha del grano hasta la elaboración de un producto final que al final esto puede causar un daño a la salud humana y animal.
- f* En México no existen normatividades para la regulación de fumonisinas en productos comerciales ni en granos de cosecha para uso comercial, industrial y forrajero, la única norma que rige en la unión europea es *European Comission Regulation No. 1881/2006*.
- f* La variedad Chihuahua se encontró libre de fumonisinas, por otro lado la variedad Karma y Turquesa se encuentran dentro del límite de tolerancia que permite la Regulación Europea que los incluye como granos permisibles al consumo humano.

Perspectivas

- Valorar más técnicas para la detección de fumonisinas pues la que emplea columnas de inmunoafinidad con anticuerpos monoclonales tiene límites mínimos y máximos para su detección y así deliberar con otras técnicas los resultados.
- Dentro de las diferentes técnicas de inmunoafinidad, es preciso emplear distintos tipos de columnas que identifiquen con mayor precisión los 15 múltiples tipos de fumonisinas que se encuentran registradas.
- Realizar más repeticiones en la técnica para la detección de fumonisinas, pues el hongo en estudio como *Fusarium* crece y se desarrolla por zonas, dependiendo del área infectada para su estimable detección se necesitan tomar muestras aleatorias y representativas de los productos y/o granos.
- Se necesita organizar más datos de estudios en curso en varios países para poder detectar las variaciones interanuales de los niveles de fumonisinas y, de ser posible, correlacionarlos con las zonas geográficas y con diversos factores ambientales.
- Se debería implementar una normatividad que regule la presencia de más toxinas naturales o modificar secciones de las ya existentes para el control de su consumo en México.
- Recomendar esta información para implementar programas de prevención de fumonisinas en todo el proceso del grano y subproductos, siembra, cosecha, almacenamiento y producción.

Glosario

- f* **Anticuerpo:** Sustancia segregada por los linfocitos de la sangre para combatir una infección de virus o bacterias que afecta al organismo.
- f* **Antígeno:** Sustancia que al introducirse en el organismo induce en este una respuesta inmunitaria, provocando la formación de anticuerpos.
- f* **Avena:** Planta cereal de cañas delgadas, hojas estrechas, flores en panoja y semilla que sirve de alimento para las personas y los animales.
- f* **Clamidosporas:** Carácter primario en la taxonomía de *Fusarium*. Si están presentes, pueden estar solas, en pares, en grupos, o en cadenas. Su pared puede ser gruesa, rugosa o lisa. Es una espora de supervivencia ante ambientes adversos que garantiza la propagación y supervivencia del hongo.
- f* **Cleistotecios:** Ascocarpio encerrado (cuerpo de fruta), faltando un poro y delimitado por una pared que se rompe de forma irregular o se desintegra en la madurez para liberar las esporas.
- f* **Conidióforos:** (Contienen el microconidio) Es un carácter taxonómico primario y, dependiendo de la especie, se pueden encontrar en monofiálides o contener monofiálides y polifiálides produciendo microconidios.
- f* **Esclerocio:** masa de células duras e inactivas bajo condiciones ambientales desfavorables.
- f* **Esporodoquio:** Masa de conidióforos cortos y estrechamente ramificados que nacen directamente de un conjunto de hifas. Se producen más frecuentemente en la naturaleza que en los cultivos de laboratorio.
- f* **Fiálide:** Tipo de célula conidiógena, de forma de botella, que produce conidios blásticos (fialoconidios o fialosporas) en sucesión basípeta, a partir de un locus (*monofiálide*, solo, único; es decir con una abertura) o varios loci (*polifiálide*, muchos), sin que haya un aumento en la longitud de la fiálide misma. Las fiálides son las células conidiógenas más comunes entre los hongos conidiales, como *Aspergillus*, *Dendrochium*, *Paecilomyces*, *Chalara*, *Fusarium* (hongos asexuales tuberculariáceos).
- f* **Grano:** Semilla y fruto de los cereales así como de algunas plantas.
- f* **Hifa:** Elementos filamentosos cilíndricos característicos de la mayoría de los hongos que conforman su estructura vegetativa. Están constituidos por una fila de células alargadas envueltas por la pared celular que, reunidas, forman el micelio.
- f* **Hongos:** Reino al que pertenecen los organismos sin clorofila, provistos de talo, generalmente filamentosos y ramificados, mediante el cual absorben los principios

orgánicos nutritivos del medio, de tamaño muy variado y reproducción preferentemente asexual (por esporas).

- f* **HTST:** High temperatura / Short Time (Pasteurización relámpago).
- f* **Macroconidio:** Es el órgano principal para la caracterización, no solamente de la especie sino también del género *Fusarium*; su forma y tamaño varía según la especie. Este se puede formar en una estructura especializada llamada esporodoquio, como también monofiálides, polifiálides y en el micelio aéreo.
- f* **Medio de cultivo:** Técnica de laboratorio que consta de un gel o una solución que contiene los nutrientes necesarios para permitir, en condiciones favorables de pH y temperatura, el crecimiento de virus, microorganismos, células, tejidos vegetales o incluso, tejidos vegetales.
- f* **Micelio:** Aparato vegetativo de los hongos que le sirve para nutrirse y está constituido por hifas.
- f* **Microconidio:** Es un carácter primario en taxonomía del género *Fusarium* y se considera su presencia o ausencia. Si el microconidio está presente, las características consideradas son: Forma, modo de formación, si está sólo, en falsas cabezas, en cabezas o en cadenas. Estos se forman en el micelio aéreo a partir de monofiálides o polifiálides pero no en el esporodoquio. Se pueden ver aislados, en masas o en cadenas.
- f* **Levadura:** Es un hongo ascomiceto (unicelular) que produce enzimas capaces de provocar etanol en fermentación alcohólica de los hidratos de carbono durante sus 5 fases de crecimiento.
- f* **Saprófito:** [organismo] Que vive sobre materia orgánica en descomposición y se alimenta de ella.
- f* **Semilla:** Grano contenido en el interior del fruto de una planta y que, puesto en las condiciones adecuadas, germina y da origen a una nueva planta de la misma especie.

Referencias Bibliográficas

1. ABD-El salam, K. A., Aly, I. N., Abdel S., M. A., Khall, M. S., Verret J. A. (2003). PCR identification of *Fusarium* genus base on nuclear ribosomal-ADN sequence data. *Journal of Microbiology* 2(4), pp. 82-85.
2. Arendt, E., E. Zannini (2013), *Cereal grains for the food and Beverage industries*, Capítulo 7, Oats, 1ª ed., Vol.1. U.S.A., pp. 243-238.
3. Badiale F., E., Lemos M., G., Alves R., T. y Correa, B. (2015) Mycobiota and occurrence of Fumonisin B₁ in wheat harvested in Southern Brazil. *Ciencia Rural Santa María*. V. 45. No. 6. pp. 1050-1057.
4. Baldwin B., G. (1992). Phylogenetic utility of internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants; An example from the Compositae. *Journal of Molecular Phylogenetics and Evolution*. 1, 3-16.
5. Barrios M., M. A. (2006). Estudio de hongos endofíticos como inductores de resistencia para el control de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en plátano. *CATIE*. Pp. 1-56.
6. Bimbo (2017), *Envase y embalaje, análisis de caso de grupo Bimbo*, Recuperado de <http://rortega611350.blogspot.mx/2012/09/analisis-de-caso-grupo-bimbo.html>.
7. Bloom, M. V., Feyer, G. A. y Micklos, D. A. (1996) *Laboratory DNA Science: An Introduction to Recombinant DNA Techniques and Methods of Genome Analysis*. Benjamin/Cummings Publishing Company. Pp. 434.
8. Bnejdi F., Hammami, I., Allagui, M. B., Saadoun, M. y Gazzah, M. el. (2010) Epitasis and Maternal Effect in Resistance to *Puccinia coronata* Cda. F. sp. *Avenae Eriks* in Oats (*Avena* sp.). *Agricultural Sciences in China*. Vol. 9. I(10). Pp. 1462-1466.
9. Bruns T. D., Gardes, M. (1993) Molecular tools for the identification of ectomycorrhizal fungi: taxon-specific oligonucleotide probes for suilloid fungi. *Mol Ecol*. 2:233-242.
10. Boukraá, L. y Bouchehrane, S. (2007). Additive action of honey and starch against *Candida albicans* and *Aspergillus niger*, *Revista Iberoamericana de Micología*. 24(4). Pp. 309-11.
11. Burgess, L. W., Summerell, B. A. y Nelson, P. E. (1992) An evaluation of several media for use in identification of some *Fusarium* spp. *Austrakasian*. *Plant Pathology*, 20: 86-88.
12. Burgess, L. W., Summerell, B. A. y Nelson, P. E. (1989) Variability and stability of morphological characters of *Fusarium oxisporium* isolated from soils in Australia. *Mycologia*. 81(5). Pp. 818-822.
13. Carolina, B. S. C. (2005). *Introductory Gel Electrophoresis. Teachers's Manual with Student Guide*, pp. 1–13.
14. Cendoya, E., Monge, M. P., Palacios, S. A., Chiacchiera, S. M., Torres, A. M., Farnochi, M. C., & Ramirez, M. L. (2014). Fumonisin occurrence in naturally contaminated wheat grain harvested in Argentina. *Food Control*, 37(1), pp. 56–61.
15. Chen, J., Ding, J., Li, H., Li, Z, Sun, X., Li, J., Wang, R., Dai, X., Dong, H., Song, W., Chen, W., Xia, Z. y Wu, J. (2012). Detection and verification of quantitative trait loci for resistance to *Fusarium* ear rot in maize. *Mol Breeding*. Pp. 30:1649-1656.

16. Chen, J., Mirocha, C. J., Xie, Hogge, L. y Olson, D. (1992), Production of the Mycotoxin Fumonisin B1 by *Alternaria alternata* f. sp. *Lycopersici*, Applied And Environmental Microbiology, Vol. 58, No. 12, p. 3928-3931.
17. Christensen, C. M. y López, L. C. (1962). Daños que causan en México los hongos de granos almacenados, Folleto técnico, No. 44. México.
18. Comisión del Codex Alimentarius (2000). Documento de Posición Sobre las Fumonisinas. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Organización Mundial de la Salud.
19. Crous, P. W., Verkley, G. J. M., Groenewald, J. Z. and Samson, R. A. (2009) Fungal Biodiversity, Hardcover, pp. 269.
20. Debaud, J. C., Marmeisse, R. y Gay, G. (1999) Intraspecific genetic variation in ectomycorrhizal fungi. In: Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology. Springer Verlag, Germany. pp: 79-113.
21. De la torre, H., M. E., Sánchez R., D., Galeana S., E., Y Plasencia D., J. (2014). Fumonisinas – Síntesis y función en la interacción *Fusarium verticillioides*-maíz. Dr. Tip, 17(1), pp. 77–91.
22. Diario Oficial de la Unión Europea (2007). Reglamento (CE) No. 1126/2007 de la Comisión. Qué modifica el reglamento por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios por lo que se refiere a las toxinas de *Fusarium* en el maíz y los productos del maíz. L 255/14.
23. Edipan (2013). Almacenamiento de los panificados EDIPAN.NET. Recuperado de <http://panader.com/?p=288>.
24. FAO. (2008). Marcadores moleculares: una herramienta para explorar la diversidad genética. Sección C, pp. 393–416.
25. FAO, (2003). Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003. Servicio de Calidad de los Alimentos y Normas Alimentarias. Italia.
26. Fisher, N. L., Burgess, L. W., Tousson, T.A. y Nelson, P. E. (1982) Carnation leaves as substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species. The American Phytopathological Society, 72: 151-153.
27. Folch M., J. L., Garay A., A., Lledías, F. y Covarrubias R., A.A. (2004) La respuesta a estrés en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Revista Latinoamericana de Microbiología. Vol. 46, Número 1-2, pp. 24 – 46.
28. García B., K. M. (2014). Identificación por PCR y caracterización morfológica de *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum* y *Fusarium subglutinans* en granos de maíz (*Zea mays* L.) proveniente de diferentes regiones de la república mexicana. UNAM, México.
29. García León, E., Leyva M., S. G., Villaseñor M., H. E., Rodríguez G., M. F. y Tovar P., J. M. (2015), Diversidad e incidencia de hongos asociados a enfermedades foliares de la avena (*Avena sativa* L.) en los valles altos de México, Comunicación corta. Vol. 41, No. 1.
30. Gardes M., White, T. J., Fortin, J. A., Bruns, T. D. y Taylor, J. W. (1991) Identification of indigenous and introduced symbiotic fungi in ectomycorrhizae by amplification of nuclear and mitochondrial ribosomal DNA. Canadian Journal of Botany. 69:180-190.

31. Gasga (1993) Working Party on Fungi and mycotoxins in Asian Food and Feedstuffs, Mycotoxicological Committee, Position Paper "Mycotoxins" in Food and Feedstuffs", Canberra, Australia.
32. GavriloVA, O. P., Gannibal, B., Gagkaeva, T. (2015). *Fusarium AND Alternaria FUNGI IN GRAIN OF OATS GROWN IN THE NORTH-WESTERN RUSSIA REGARDING CULTIVAR SPECIFICITY*, Agricultural Biology, V. 51 No. 1. Pp. 111-118.
33. Global Biodiversity Information Facility (GBIF), Universitetsparken 15, Copenague, Dinamarca, 2016, <http://www.gbif.org/species/100325647/classification>, consulta (24/04/17).
34. Glenn, A. E. (2007). Mycotoxigenic *Fusarium* species in animal feed, Animal Feed Science and Technology, 137(3-4), pp. 213–240.
35. Golumbic C., y Kulik, M.M. (1969) Fungal spoilage in stored crops and its control. *Aflatoxin*. Chapter XI Academic Press. pp. 307-332.
36. Hernandez, E. J. (2005). Caracterización molecular de especies del género *Malassezia*. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona,
37. Hüttner, Y. C., Oats nutrition technology, Willey Blackway, USA, 2013.
38. Ismail, M. A., Taligoola, H. K. y Nakomya, R. (2008) Mycobiota associated with baby food products imported into Uganda with special reference to aflatoxigenic aspergilli and aflatoxins, Czech Mycol, 60(1). Pp. 75-89.
39. Johntson, M. R., Carsten, L. D., Douglas, L. y Sands, D. C., Epidemic development and virulence in 1995-1998 of *Puccinia coronata*, a potential biocontrol of wild oats on san clemente island (1999). Biological Control. 17. Pp. 250-257.
40. Jongen W., M. F., Dorgelo, F.O. (1986) Naturally occurring carcinogens and modulating factors in food of plant origin. *Neth j. Agric Sci.* 34: 395.
41. Jurado G., P., Lara M., C. R. (2014), Paquete tecnológico para la producción de avena forrajera en Chihuahua, 1ª ed., Folleto técnico núm. 51, México.
42. Leslie, J. F. y Summerell, B. A. (2007), *The Fusarium Laboratory Manual*, 1ra ed., Blackwell Publishing, Unit Kingdom, pp. 1-388.
43. Leyva M., S. G., Espitia R, E., Villaseñor M., H. E. y Huerta E., J. (2004). Pérdidas ocasionadas por *Puccinia graminis* f. sp. *Avenae* Eriks. Y Henn., causante de la roya del tallo en seis cultivares de avena, México, Revista Mexicana de Fitopatología. Vol. 22. No. 2. Pp. 166-171.
44. Leyva M., S. G., Sillas C., R., Villaseñor M., H. E., Mariscal A., L. A. y Rodríguez G., M. F. (2013) Enfermedades fungosas asociadas al cultivo de avena (*Avena sativa*) en el Estado de México. Revista Mexicana de Ciencias agrícolas. Vol. 4 No. 7, pp. 1103-1107.
45. Magan N. y M. Olsen. (2004). Mycotoxins in food: Detection and control, CRC Press Woodhead publishing limited, Inglaterra.
46. Martínez, E.J., González, H.H.L. y Resnik, S.L. (1997) Fungi associated with sorghum grain from Argentina, Mycopathología. 139(1). Pp.35-41.
47. Martonell, G.P. (2006) Desarrollo y aplicación de sistemas rápidos para la detección, identificación y caracterización de levaduras alternantes de alimentos. Tesis doctoral. Universidad de Valencia.

48. Mateo, E. M., Valle A., F. M., Jiménez M. y Magan, N. (2013), Impact of three sterol-biosynthesis inhibitors on growth of *Fusarium langsethiae* and on T-2 and HT-2 toxin production in oat grain under different ecological conditions. *Food control*, 34 (2), pp. 521-529.
49. Mcdowell, J., (2017). InterPro-Protein Archive. Recuperado de https://www.ebi.ac.uk/interpro/potm/2003_3/Page_1.htm.
50. Montes de oca, Claudio (2015), "Avena le gana cultivo al maíz", *NTR Periodismo crítico*. Recuperado de <http://ntrzacatecas.com/2015/06/03/avena-le-gana-cultivo-al-maiz-sagarpa/>.
51. Moreno M., E. (1998), Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados, Universidad Nacional Autónoma de México, México. Pp. 77-78.
52. Mylona, K., Magan, N. (2011). *Fusarium langsethiae*: Storage environment influences dry matter losses and T2 and HT-2 toxin contamination of oats. *Journal of Stored Products Research*, 47(4), pp. 321-327.
53. Mulè, G., Susca, A., Stea, G., & Moretti, A. (2004). A species-specific PCR assay based on the calmodulin partial gene for identification of *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* and *F. subglutinans*. *European Journal of Plant Pathology*, 110(5-6), pp. 495–502.
54. Nelson, P. E., Tousson and W. F. O. Marasas. *Fusarium species: An illustrated manual for identification*. Pennsylvania State University Press. 1983.
55. Nirenberg, H. i. (1976). Untersuchungen über die morphologische und biologische differenzierung in der *Fusarium*-Section *Liseola*. *Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt für Land-Fortwirtschaft Berlin-Dahlem*. 169:1-117.
56. NMX-F-289-1977. (1977) Alimentos para uso humano. Cereales. Avena laminada o en copos. Especificaciones. Foods for human use. Sheeted oats or in flakes. Especifications. Normas mexicanas. Dirección general de normas. México.
57. Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008 (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 y sus mexclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba.
58. Northolt, M. D., The effect of water activity and temperature on the production of some mycotoxins,(1979), National Institute of Public Health, Bilthoven.
59. O'donnell K. (1992). Ribosomal DNA internal transcribed spacers are highly divergent in the phytopathogenic ascomycete *Fusarium sambucinum* (*Gibberella publicaris*). *Current genetics*, 1992, 22, 213-220.
60. Oomah, B. D. (1983). Baking and related properties of wheat – Oat composite flours. *Cereal Chemistry*, 60, pp. 220–225.
61. Pacheco, T. I., González C., M. M., Villaseñor M., H. E., Huerta E., J., Villordo P., E., Espitia R., E., Guevara G., R., Guevara O., L. (2007). Marcadores genéticos de resistencia a Roya de tallo (*Puccinia graminis* Persoon f. sp. *Avenae*) en avena (*Avena sativa* L.), *Agricultura Técnica en México*. Vol. 3. No. 7. Pp. 221-230.

62. Patiño B., Mirete S., Vázquez C., Jiménez M., Rodríguez M. T., González J. M. T. Characterization of *Fusarium verticillioides* strains by PCR-RFLP analysis of the intergenic spacer region of the rDNA. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2006, 86, 429-435.
63. Perowsky, J., Krysinska T., E., Dutkiewicz, J. (2007). Levels of fungi and mycotoxins in the samples of grain and grain dust collected from five various cereal crops in Eastern Poland. *Ann Agric Environ Med*, 14. Pp. 159-167.
64. Pitt, J. I. y Hocking, A. D. (2009). *Fungi and food Spoilage*, 3a ed. Springer. USA.
65. Rodríguez T., A., Xoconostle C., B., y Valdés, M. (2004). Molecular ecology of ectomycorrhizal fungi. *Revista Fitotecnia mexicana*, 27(3), pp. 267–278.
66. Romero, Zarco C. Sinopsis del género Avena L. (*Poaceae, avenae*) en España peninsular y baleares (1996), *Lagascalia*, 18(2). pp. 171-198.
67. Sabate, Albert, OMEN Confidencial, <http://omen-confidencial.com/analisis-de-mercado/materias-primas-alimentarias/cereales/avena/> , consulta (17/05/15).
68. Sagarpa-Siap, (2012). Estudio de gran visión y factibilidad económica y financiera para el desarrollo de la infraestructura de almacenamiento y distribución de granos y oleaginosas para el mediano y largo plazo a nivel internacional. Informe nacional de Producción. Pp. 256.
69. Sanchez M., J., Rubiales, D., Flores, F., Emeran, A. A., Shtaya, M. J. Y., Sillero, J. C., Allagui, M. B. y Prats, E. (2014), Adaptations of oat (*Avena sativa*) cultivars to autumn sowings in Mediterranean environments. *Field Crops Research*, 156. Pp. 111-122.
70. Sánchez F., R. E., Sánchez O., B. L., Sandoval E., Y. K. M., Ulloa B., A., Armendáriz G., B. (2013), Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *Dr. TIP*, 16(2), pp. 132-146.
71. Smith, J. E. y Moss, M. O. (1985) *Mycotoxins: Formation, Analysis and significance*, John Wiley & Sons, Vol. 26, Issue 5. Pp. 312.
72. Serna, S., S., Othon, R. (2017) *Química, Almacenamiento e industrialización de los cereales, Avena, generalidades, beneficios, almacenamiento, procesos, productos y empaques*. http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/hbeb/Cereales/Exp_avena_equipo_1.pdf.
73. Stoloff, L., Van Egmond, H. P. y Park, D. L. (1991) Rationales for the establishment of limits and regulations for mycotoxins, *Food Addit. Contam.* 8:213.
74. Strychar, R. (2011). World oat production, trade, and usage. In: webster, f. h. and wood, p. j. (eds) *Oats: Chemistry and Technology* (2nd ed.). St Paul, MN: AACC International, Inc. pp. 10.
75. Torres Sánchez, L., y López C., L. (2010). Consumo de fumonisinas y daños a la salud humana. *Salud Publica de Mexico, Salud publica de México*. 52(5). Pp. 461–467.
76. Tournas, V. H., Niazi, N. S. y Kohn, J. (2015). Fungal Presence in Selected Tree Nuts and Dried Fruits, *Microbiology Insights*, 8. Pp. 1-6.
77. Twaruzek, M., Błajet K., A., Wenda P., A., Pałubicki, J., y Grajewski, J. (2013). Statistical comparison of *Fusarium* mycotoxins content in oat grain and related products from two agricultural systems. *Food Control*, 34(2). Pp. 291–295.

78. Van der Heijden, K., Younes, M., Fishbein, L. y Miller, S. (1999) International Food Safety Handbook. Marcel Dekker Inc., U.S.A.
79. Van Tuinen D., Zhao, B., Gianinazzi P., V. (1999) PCR in studies of arbuscular mycorrhizal fungi: from primers to application. In: Mycorrhiza Manual. A Varma (1ed). Springer, Alemania. pp: 387- 399.
80. Wang, H., Jones, C., Ciacci-Z., J., Holt, T., Gilchrist, D. G. y Dickman, M., B. (1996), Fumonisin and *Alternaria alternata lycopersici* toxins: Sphinganine analog mycotoxins induce apoptosis in monkey kidney cells. Proc. Natl Acad. Sci. USA, Biochemistry, Vol. 93, pp. 3461-3465.
81. Weidenbörner, M. (2001). Encyclopedia of Food Mycotoxins, Springer, Germany.
82. Wiersema, J. H. Germplasm Resources Information Network (GRIN)-Taxonomy: Economic plants. USDA-Agricultural Research Service, EUA, 2016. Internet, <http://www.ars-grin.gov/npgs/tax>.
83. Zillinsky, F. J. (1982). Guía para la Identificación de Enfermedades en Cereales de Grano Pequeño, Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. México.
84. Zwer, P. K. (2016). Oats: Overview. Encyclopedia of Food Grains (2nd ed.). The cereal Grains. Pp. 173-183.