



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

CALIDAD SANITARIA DEL GRANO DE
GIRASOL (*Helianthus annuus* L.)

T E S I S:

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO AGRÍCOLA

PRESENTA:

PATRICIA SALAZAR JIMÉNEZ

ASESOR: DRA. MARÍA CRISTINA JULIA PÉREZ REYES

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Calidad Sanitaria del Grano de Girasol (Helianthus annus L.)

Que presenta la pasante: PATRICIA SALAZAR JIMÉNEZ

Con número de cuenta: 40704958-9 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería Agrícola

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 19 de mayo de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. María Cristina Julia Pérez Reyes	
VOCAL	Dra. Margarita Tadeo Robledo	
SECRETARIO	Ing. Arturo Leodegario Ortiz Cornejo	
1er. SUPLENTE	Ing. Ángel Cipriano López Cortés	
2do. SUPLENTE	Dr. Jesús Abraham Méndez Albores	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/ntm*

AGRADECIMIENTOS

“En la tierra hay suficiente para satisfacer las necesidades de todos, pero no tanto como para satisfacer la avaricia de algunos”.

Mahatma Gandhi

Agradezco a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por haberme formado como profesional durante mis años de estudiante.

Agradezco a la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS), por haberme permitido llevar a cabo este trabajo de investigación.

Así mismo, reitero un enorme agradecimiento a la Dra. María Cristina Julia Pérez Reyes por la asesoría brindada para la realización de este proyecto y a la Dra. Gabriela Sánchez Hernández, no solo por su apoyo técnico, sino también por su calidad humana, además de compartir sus conocimientos, experiencias, tiempo y esfuerzos que me permitieron culminar el presente trabajo, ya que sin estos no hubiera sido posible.

Agradezco a los sinodales, Dra. María Cristina Julia Pérez, Dra. Margarita Tadeo Robledo, Ing. Arturo Leonardo Ortiz Cornejo, Ing. Ángel Cipriano López Cortés y al Dr. Jesús Abraham Méndez Albores, por dedicar parte de su tiempo en enriquecer este trabajo para mejorarlo.

Así mismo, agradezco al Proyecto PIAPI 1608 “Calidad sanitaria y tecnológica del grano de maíz y sus derivados destinados para consumo humano y/o animal” y al PAPIME PE204217: Elaboración de un manual para el Análisis de la Calidad de Granos y Semillas en formato CD el apoyo brindado para la elaboración del presente trabajo.

DEDICATORIA

Se humilde, porque estás hecho de tierra

Se noble, porque estás hecho de estrellas

Proverbio Serbio

A la vida por permitirme ser parte de esta aventura y demostrarme todos los días que todo es posible.

A la tierra misma por ser lo que es promotora y sustentadora de vida.

A mis padres, Fernando y Patricia, que, con amor, dedicación y con mucho esfuerzo hicieron posible que terminara mis estudios, enseñándome que, aunque el camino sea difícil tenemos que seguir adelante.

A mis hermanos, Viri y Fer, por ser mis compañeros de vida y mejores amigos, porque con ustedes aprendo día con día.

A mis sobrinos, María Valentina y Miguel Ángel, que han hecho mi vida más divertida y que fueron fundamentales para que este trabajo se realizara, les deseo lo mejor del mundo hoy y siempre.

A mis amigos: Vale, Miguel y Francisco, por compartir conmigo la aventura de vivir.

A cada uno de ustedes los amo mucho y les agradezco la confianza que han puesto en mí.

ÍNDICE DE CUADROS

1	Requerimientos del cultivo de girasol	8
2	Etapas fenológicas de la planta de girasol	12
3	Composición nutricional del grano de girasol para consumo humano	22
4	Condiciones de humedad relativa de equilibrio para el desarrollo de hongos en granos almacenados	30
5	Contenido de humedad en equilibrio con humedad relativa de 65 a 90%	31
6	Especies principales de <i>Aspergillus</i> y micotoxinas producidas	41
7	Especies principales de <i>Penicillium</i> y micotoxinas producidas	49
8	Características de las muestras evaluadas para consumo humano (envasados y a granel)	50
9	Muestras para consumo animal (envasados y a granel)	51
10	Porcentaje de la microbiota endógena y exógena del grano de girasol envasado para consumo humano	72
11	Porcentaje de la microbiota endógena y exógena del grano de girasol a granel para consumo humano	72
12	Porcentaje de microbiota endógena y exógena del grano de girasol envasado para consumo animal	74
13	Porcentaje de microbiota endógena y exógena del grano de girasol a granel para consumo animal	74
14	Análisis de aflatoxinas totales en grano de girasol para consumo humano a granel y envasado	77
15	Análisis de aflatoxinas totales en grano de girasol para consumo animal a granel y envasado	78

ÍNDICE DE FIGURAS

1	Raíz pivotante de la planta de girasol	9
2	Tallo ramificado de la planta de girasol	9
3	Hojas de girasol que muestran sus formas y nervaduras	10
4	Capítulo floral formado por numerosas flores sobre un receptáculo discoide	10
5	Flores liguladas o radiadas	11
6	Flores tubulares o de disco	11
7	Aquenio del grano de girasol	11
8	Estados fenológicos del girasol	13
9	Porcentaje de producción internacional en toneladas del grano de girasol	14
10	Producción internacional en toneladas de grano de girasol	15
11	Producción nacional en toneladas del grano de girasol para consumo humano	15
12	Producción nacional por estado en porcentaje (%) del grano de girasol para consumo humano	16
13	Superficie nacional sembrada en toneladas (ton) de grano de girasol para consumo humano	17
14	Superficie nacional cosechada por estado en hectáreas (ha) de grano de girasol para consumo humano	17
15	Producción nacional en toneladas del grano de girasol para consumo animal	18
16	Producción nacional por estado en toneladas (ton) de grano de girasol para consumo animal	18
17	Tipos de conidios de <i>Alternaria helianthinficiens</i>	24
18	Desarrollo de <i>Aspergillus flavus</i> en CYA 37°C	25
19	Macromorfología de <i>Penicillium expansum</i> en medios de cultivo	25
20	Colonia de <i>Aspergillus niger</i> en CYA 25°C, aislado de grano de girasol	26
21	<i>Paecilomyces</i> aislado de grano de girasol	26

22	Manchas en el capítulo y tallo del girasol características de la infección por <i>Alternaria helianthinficiens</i>	33
23	Lesiones causadas por <i>Alternaria helianthinficiens</i> a hoja de girasol	33
24	Follaje de una planta de girasol atacada por <i>E. cichoracearum</i> , agente causal de la cenicilla	34
25	Micelio y esclerocios de <i>Sclerotium rolsfii</i> desarrollados en medio de cultivo	35
26	Desarrollo de <i>Macrophomina phaseolina</i> en medio de cultivo	36
27	Corte longitudinal de la base del tallo y de la raíz de girasol en donde se observa el tejido enfermo por <i>M. phaseolina</i>	36
28	Síntoma causado por <i>Rhizopus</i> sp. en el capítulo	37
29	Síntoma causado por <i>Rhizopus</i> sp. en la hoja	37
30	Diferentes especies del género <i>Aspergillus</i> aisladas de grano de girasol en medio de cultivo PDA	41
31	Siembra de grano de girasol para consumo animal en medio de cultivo PDA y MSA	52
32	Siembra de grano de girasol para consumo humano en medio de cultivo PDA y MSA	52
33	Características macromorfológicas de <i>Aspergillus flavus</i> aislado de grano de girasol en diferentes medios de cultivo	53
34	Características micromorfológicas de la cabeza conidial de <i>Aspergillus flavus</i> aislado del grano de girasol	53
35	Conidióforo penicilado de <i>Penicillium aurantiogriseum</i> 40x	54
36	Características macromorfológicas de <i>Penicillium</i> sp. aislada de grano de girasol en medio de cultivo PDA a 40x	54
37	Frecuencia de aislamiento de la microbiota endógena de grano de girasol envasado para consumo humano	62
38	Frecuencia de aislamiento de la microbiota exógena de grano de girasol envasado para consumo humano	62
39	Frecuencia de aislamiento de la microbiota exógena de grano de girasol a granel para consumo humano	64

40	Frecuencia de aislamiento de la microbiota endógena de grano de girasol a granel para consumo humano	65
41	Frecuencia de aislamiento de la microbiota exógena de grano de girasol envasado para consumo animal	67
42	Frecuencia de aislamiento de la microbiota endógena de grano de girasol envasado para consumo animal	67
43	Frecuencia de aislamiento de la microbiota endógena de grano de girasol a granel para consumo animal	69
44	Frecuencia de aislamiento de la microbiota exógena de grano de girasol a granel para consumo animal	70
45	Macroconidios falcados de <i>Fusarium</i> sp.	81
46	Conidios con septos longitudinales y transversales de <i>Alternaria</i> sp.	82
47	Conidios e hifas de <i>Cladosporium</i> sp.	83
48	Cabezuela conidial biseriada de <i>Aspergillus</i> sp.	84
49	Cleistotecios, ascas y ascosporas de <i>Eurotium</i> sp.	84
50	Conidióforo biverticilado de <i>Penicillium</i> sp.	85
51	Esporangióforo con esporangio y columela de <i>Mucor</i> sp.	86
52	Esporangios en esporangióforos con rizoides de <i>Rhizopus</i> sp.	87
53	Conidios de <i>Paecilomyces</i> sp.	88
54	<i>Aspergillus candidus</i> : A. cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; B. cabeza conidial biseriada; C. conidios ligeramente ovoides; D. hifas	90
55	<i>Aspergillus flavus</i> : A. cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; B. cabeza conidial biseriada; C. hifas	91
56	<i>Aspergillus niger</i> : A. cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; B. cabeza conidial biseriada; C. conidios globosos con paredes rugosas; D. hifas	92
57	<i>Aspergillus ochraceus</i> : A. cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; B. cabeza conidial biseriada; C. hifas	93

58	<i>Aspergillus parasiticus</i> : A. cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; B y C. cabeza conidial biseriada; D. conidios globosos con paredes rugosas	94
59	<i>Aspergillus tamaris</i> : A. cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; B. cabeza conidial biseriada; C. conidios globosos	95
60	<i>Aspergillus versicolor</i> : A. cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; B. cabeza conidial biseriada; C. conidios globosos con paredes ligeramente rugosos	96
61	<i>Aspergillus wentii</i> : A. cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; B y C. cabezas conidiales biseriadas	97
62	<i>Eurotium amstelodami</i> : A. cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; B. cabeza conidial uniseriada; C. asca globosa con ascosporas lenticulares y conidio subgloboso; D cleistotecio	98
63	<i>Eurotium chevalieri</i> : A. cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; B. cabeza conidial uniseriada; C. ascas con ascosporas lenticulares; D cleistotecios globosos a subglobosos	99
64	<i>Eurotium herbariorum</i> : A. cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; B. cabeza conidial uniseriada; C. conidios esféricos a elipsoidales equinulados; D cleistotecio con ascas y ascosporas lenticulares con un surco	100
65	<i>Penicillium aurantiogriseum</i> : cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, Gn25, YES, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C	101
66	Micromorfología de <i>Penicillium aurantiogriseum</i> : A y B. conidióforos terverticilados	102
67	<i>Penicillium</i> var. <i>aurantiogriseum</i> : cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, Gn25, YES, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C	103
68	Micromorfología de <i>Penicillium</i> var. <i>aurantiogriseum</i> : A y B. conidióforo terverticilado; C. conidios ligeramente ovoides	104

69	<i>Penicillium aurantiogriseum</i> var. <i>viridicatum</i> : cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, CYA, Gn25, YES, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C	105
70	Micromorfología de <i>Penicillium aurantiogriseum</i> var. <i>viridicatum</i> : A, B y C . conidióforos terverticilados	106
71	<i>Penicillium citrinum</i> : A. cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, Gn25, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C; B. conidióforo terverticilado	107
72	<i>Penicillium commune</i> : cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, Gn25, YES, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C	108
73	Micromorfología de <i>Penicillium commune</i> : A y B. conidióforos terverticilados	109
74	<i>Penicillium chrysogenum</i> : cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, Gn25, YES, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C	110
75	Micromorfología de <i>Penicillium chrysogenum</i> : A, B y C. conidióforos terverticilados	111
76	<i>Penicillium crustosum</i> : cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, Gn25, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C	112
77	Micromorfología de <i>Penicillium crustosum</i> : A, B y C. conidióforos terverticilados	113
78	Micromorfología de <i>Penicillium echinulatum</i> : A. cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, CZ, CYA a 25 °C; B y C. conidióforos terverticilados; D. conidios con paredes rugosas	114
79	<i>Penicillium expansum</i> : cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en EMA, Gn25, YES, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C	115
80	Micromorfología de <i>Penicillium expansum</i> : A, B y C conidióforos terverticilados	116

CONTENIDO

CONTENIDO	vii
ÍNDICE DE CUADROS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
OBJETIVOS	5
I. OBJETIVO GENERAL	5
II. OBJETIVOS PARTICULARES	5
HIPÓTESIS	6
CAPÍTULO 1. Antecedentes	7
1.1 Características del cultivo de girasol	7
1.2 Clasificación botánica	8
1.3 Morfología	9
1.4 Fenología	12
1.5 Producción internacional y nacional del girasol	13
1.6 Importancia económica del grano de girasol	19
1.7 Usos del grano de girasol	19
1.8 Propiedades nutrimentales de los granos de girasol	20
1.8.1 Composición de los granos de girasol	20
1.8.2 Granos de girasol y beneficios de sus aceites esenciales	21
1.8.3 Riqueza en aminoácidos de los granos de girasol	21
1.9 Grano de girasol para consumo animal	23
1.10 Calidad de granos y semillas	23
1.10.1 Calidad sanitaria	24
1.10.2 Calidad del grano de girasol	26
1.11 Cuidados durante de la cosecha y almacenamiento del grano del girasol (manejo postcosecha)	27
1.12 Hongos que afectan la calidad del girasol	31
1.13 Micotoxinas	40
1.14 Principales hongos productores de micotoxinas	41

1.15	El descubrimiento de las aflatoxinas	42
1.15.1	Aflatoxinas (AFs)	42
1.15.2	Legislación existente para aflatoxinas en alimento destinados para consumo animal	44
1.15.3	Legislación de aflatoxinas en alimentos para consumo humano	44
1.16	Prevención y control de aflatoxinas	44
CAPÍTULO 2. Materiales y Métodos		50
2.1	Material biológico	50
2.2	Determinación de la microbiota	51
2.3	Identificación del género <i>Aspergillus</i> a nivel de especie	52
2.4	Identificación del género <i>Eurotium</i> a nivel especie	53
2.5	Identificación del género <i>Penicillium</i> a nivel de especie	53
2.6	Determinación del contenido de aflatoxinas totales (AFs)	54
2.6.1	Extracción de aflatoxinas totales	54
2.7	Análisis estadístico y diseño experimental	55
CAPÍTULO 3. Resultados y Discusión		56
3.1	Determinación de la microbiota endógena y exógena del grano de girasol envasado para consumo humano	60
3.2	Determinación de la microbiota exógena y endógena del grano de girasol a granel para consumo humano	63
3.3	Determinación de microbiota exógena y endógena del grano de girasol envasado para para consumo animal	65
3.4	Determinación de microbiota endógena y exógena de grano de girasol a granel para consumo animal	68
3.5	Microbiota total de grano de girasol para consumo humano envasado y a granel agrupados ecológicamente en hongos de campo, almacén y deterioro avanzado	70
3.6	Determinación total de microbiota exógena y endógena de grano de girasol envasado y a granel para consumo animal	73
3.7	Determinación de aflatoxinas totales en grano de girasol para consumo humano	76

3.8	Determinación de aflatoxinas totales en grano de girasol para consumo animal	77
	CAPÍTULO 4. Catálogo de imágenes de hongos comunes en granos de girasol destinados al consumo humano y animal	80
	CONCLUSIONES	117
	RECOMENDACIONES	119
	BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA	120
	ANEXO A	129

RESUMEN

En el presente trabajo se analizó la calidad sanitaria con respecto a la presencia de hongos y aflatoxinas totales del grano de girasol para consumo humano y animal en dos presentaciones diferentes envasados y a granel recolectadas de diferentes zonas del área metropolitana de la Ciudad de México.

En el caso del grano de girasol para consumo humano se utilizaron 12 muestras en diferentes preparaciones: acaramelado (miel), enchilado, salado, natural y natural tostado; de las cuales 6 correspondieron a la presentación a granel y 6 a las envasadas; la microbiota exógena y endógena se determinó por el método de placa agar empleando los medios de cultivo malta sal agar (MSA) y papa dextrosa agar (PDA) incubándose las placas de agar durante 7 días.

Para el análisis de la calidad sanitaria del grano de girasol para consumo animal también se analizaron 12 muestras de las cuales 6 eran envasadas y 6 a granel determinando la microbiota de la misma manera como se mencionó anteriormente.

A los resultados obtenidos de la microbiota se les realizó un ANOVA y una comparación de medias por el método de Tukey, con una $p \leq 0.05$; indicando que las muestras, tanto para consumo humano como animal, presentaron una alta incidencia de hongos de almacén, deterioro avanzado y bacterias mesófilas.

Posteriormente se identificaron a nivel de género y/o especie los hongos que presentaron mayor frecuencia de aislamiento, por su macromorfología y micromorfología utilizando claves especializadas. Los generos de hongos que se identificaron a nivel de especie fueron *Aspergillus* y *Penicillium*.

El análisis para la determinación de aflatoxinas totales empleado fue el método 991.31 de la AOAC para las 24 muestras, dando como resultado 7 muestras positivas para aflatoxinas totales (AFs), presentando niveles por debajo del límite máximo permitido, de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, en México.

Debido a la gran diversidad de especies del género *Aspergillus* y *Penicillium* que se presentaron en este trabajo se consideró importante realizar un catálogo de imágenes, mostrando las características macromorfológicas y micromorfológicas.

Palabras clave: microbiota, micotoxinas, grano de girasol, calidad sanitaria.

INTRODUCCIÓN

El girasol es originario de México, desde hace muchos años, se utiliza como forraje y con fines ornamentales. De su semilla se obtienen principalmente dos subproductos: harina y aceite. La harina se utiliza en la industria de alimentos balanceados ya que su contenido de proteína la hace atractiva para la alimentación del ganado y las aves. El grano también es utilizado en la elaboración de botanas y, como todo producto agrícola, es invadido por diversos microorganismos durante su desarrollo en el campo, transporte y almacenamiento, siendo los hongos los más abundantes y la principal causa de enfermedades, ocasionando severas pérdidas económicas al reducir el potencial de producción de los cultivos que atacan. La alimentación humana y animal en gran parte se basa en el consumo de granos, los que frecuentemente son invadidos por hongos, causando diferentes problemas, entre ellos la contaminación por micotoxinas (Moreno, 1988).

Existe poca información en la literatura sobre la microbiota de oleaginosas como el girasol, sin embargo, se han realizado estudios en diferentes países como Pakistán e India, encontrando principalmente hongos como: *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium verticillioides*, *F. solani*, *F. semitectum*, *F. equiseti*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Botrytis*, *Cladosporium* y *Stemphylium* (Pitt y Hocking, 2009). Siendo *Alternaria* y *Fusarium* los principales géneros que infectan el grano de girasol y se han encontrado entre un 15 y 60% en el grano desinfectado. Las especies *F. verticillioides*, *F. semitectun* y *F. solani* fueron las más comunes.

Las fumonisinas son una clase de micotoxinas producidas por el género *Fusarium*; tienen una capacidad hepatotóxica y hepatocarcinógena, y se ha correlacionado con cáncer de esófago en el hombre (Sánchezn y Lopez, 2010) y problemas gastrointestinales, diarrea e inmunosupresión en animales (Gallo et al., 2015). Mientras que el alternariol y monometiléter de alternariol son micotoxinas producidas por algunas especies del género *Alternaria*; se han encontrado en las semillas de girasol en cantidades de 1.8 y 0.13 mg/kg, respectivamente, y se ha reportado que provocan gangrena en el ganado vacuno y cambios en la mucosa

esofágica que se han asociado con cáncer (Dijksterhuis y Samson, 2007). Como los granos de girasol son descascarados para disminuir su contenido de humedad, y posteriormente almacenados, la microbiota presente influye, favoreciendo el desarrollo de hongos de almacén, principalmente del género *Aspergillus*, siendo las especies toxigénas más comunes de este género *A. flavus*, *A. niger*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus*, *A. nomius* y *A. tamaris* (Dijksterhuis y Samson, 2007). *A. flavus* y *A. parasiticus*, son especies productoras de aflatoxinas, *A. parasiticus* es una especie con una distribución geográfica más limitada que *A. flavus*, ambas especies presentan una afinidad especial en cereales y semillas de oleaginosas, la presencia y magnitud de la contaminación de aflatoxinas varía en función de factores geográficos y estacionales y también de las condiciones en que se cultiva, recolecta y almacena un producto agrícola. Es importante señalar que *A. flavus* produce mayormente aflatoxinas B₁ y B₂ mientras que *A. parasiticus* y *A. nomius* producen B₁, B₂, G₁ y G₂ (Soriano, 2007).

Por otro lado, *Penicillium* es un hongo de almacén, el cual causa efectos nocivos en los granos, como su deterioro, además de la producción de micotoxinas, lo cual constituye un serio problema que pone en riesgo la salud humana y animal. Una de las micotoxinas producida por algunas especies de este género es el ácido penicílico, esta sustancia fue aislada por primera vez de *P. puberulum* siendo cancerígena, otra toxina producida por este hongo es la citrinina producida por *P. citrinum*, la toxicidad de la citrinina en condiciones de laboratorio es principalmente renal pero también afecta al sistema parasimpático (García, 1989).

En este trabajo se analizó la microbiota del grano de girasol envasado y a granel destinado para alimentación humana y animal, enfatizando el riesgo potencial de la presencia de especies micotoxígenas, así como la determinación del contenido de aflatoxinas totales.

OBJETIVOS

I. OBJETIVO GENERAL

Analizar la calidad sanitaria y el contenido de aflatoxinas totales presentes en los granos de girasol empleados para la alimentación humana y animal en muestras envasadas y a granel procedentes del área metropolitana de la Ciudad de México.

II. OBJETIVOS PARTICULARES

- 2.1 Evaluar la presencia de hongos de campo, almacén y de deterioro avanzado, en veinticuatro muestras de grano de girasol, por el método de placa agar para establecer su calidad sanitaria.
- 2.2 Identificar a nivel de género y/o especie los hongos asociados al grano de girasol, y realizar un catálogo de imágenes de los hongos más representativos en grano de girasol envasado y a granel de importancia en la industria alimentaria en México.
- 2.3 Determinar el contenido de aflatoxinas totales por el método de columnas de anticuerpos monoclonales en granos de girasol para establecer si representan un riesgo toxicológico a la salud humana y animal.

HIPÓTESIS

La calidad sanitaria del grano de girasol, dependerá de la presentación, proceso de preparación y destino para su consumo; siendo las muestras a granel tanto para consumo humano como animal, las que presentarán mayor incidencia de hongos, bacterias mesófilas y contenido de aflatoxinas totales, en comparación con las muestras envasadas.

CAPÍTULO 1. Antecedentes

1.1 Características del cultivo de girasol

Hace poco se consideraba que el origen del girasol se ubicaba en el norte de México y el oeste de Estados Unidos, recientes descubrimientos arqueológicos realizados por el Dr. David Lentz de la Universidad de Cincinnati, han dejado al descubierto que la procedencia del girasol es de Mesoamérica, en los estados de Morelos y Tabasco, señalándolo como un cultivo milenario de México cuya domesticación data desde la época precolombina, pues se han encontrado semillas fosilizadas que datan desde hace 4 mil años, sin embargo, otras fuentes señalan que la sistematización de este cultivo se realizó alrededor del año 1000 después de Cristo (INTA, 2012).

El nombre del girasol proviene de la propiedad que tiene de girar hacia el sol para captar mejor la luz (heliotropismo). Etimológicamente *Helianthus* deriva del griego *helio*, sol; *anthos*, flor; *annuss* anual. Entre los nahuas se conoce como *chimalatl* o *chimalxóchitl*, donde *chimatl* significa escudo y *xochitl*, flor. Los otomíes de Hidalgo lo llaman *yendri*, mientras que en Guerrero se conoce como *quisnaniquitonale*, *xaricamata* en Michoacán y *sinchín* en lengua pame (CONABIO, 2017).

Actualmente su cultivo como planta alimentaria y de ornamentación está ampliamente extendido en numerosas regiones con clima templado, sin embargo, es un cultivo con una alta adaptabilidad destacando por ello los siguientes países productores: Federación Rusa, Ucrania, Argentina, China, Francia, Rumania, Estados Unidos de América, Bulgaria, Turquía y España; principalmente para la producción de aceite de girasol, pero también para el consumo de pipas o semillas, forraje para aves de corral y desde la antigüedad como una planta ornamental (FAOSTAT, 2016).

Este cultivo presenta bastante elasticidad en cuanto a sus requerimientos térmicos, así mismo, es uno de los cultivos más tolerantes a la falta de agua, y tiene gran adaptación a diferentes tipos de suelos; sus requerimientos óptimos se muestran en el Cuadro 1 (CIRPAC, 2015).

CUADRO 1. Requerimientos del cultivo de girasol.

FACTOR	REQUERIMIENTOS	
TEMPERATURA	Mínima Máxima Óptima	12-13 °C 30 °C 20-25°C
HUMEDAD (baja humedad relativa)	Ciclo vegetativo Formación del botón floral Floración 20 días antes y 20 días después Llenado del grano	600-650 mm 150 mm 300-350 mm 150 mm
SUELO	Arcillo- Arenoso	
ALTITUD	0-1000 msnm	
FOTOPERIODO	12-14 horas luz	
pH	7 – 7.5	

FUENTE: CIRPAC; 2015 (Elaboración propia, 2017).

1.2 Clasificación botánica

La clasificación botánica del girasol es la siguiente (CONABIO, 2009):

Reino Plantae

Subreino Traqueobionta

División Magnoliophyta

Clase Angiospermae

Subclase Asteridae

Orden Asterales

Familia Asteraceae

Subfamilia Asteroideae

Tribu Heliantheae

Género *Helianthus*

Especie *annus*

Nombre científico *Helianthus annus* L.

De acuerdo a estudios taxonómicos y bancos de germoplasma de diversos países, se ha llegado a la conclusión de que del género *Helianthus* existen alrededor de 67 especies silvestres, la mayoría de comportamiento perenne y muy pocas de comportamiento anual.

1.3 Morfología

Raíz

Posee una raíz pivotante que llega a alcanzar hasta dos metros de profundidad y se ramifica lateralmente a la altura del cuello, formándose un gran número de raíces secundarias que se extienden horizontalmente y luego se profundizan tratando de alcanzar la humedad (Figura 1). Esta característica de su sistema radicular explica la gran adaptación a los recursos hídricos del suelo, la capacidad de desarrollarse con poca agua y responder bien a la humedad acumulada del suelo. En estado cotiledonar tiene de 4 a 8 cm de largo, durante la formación de las hojas alcanza una profundidad de 50 a 70 cm.

Su máximo crecimiento ocurre al tiempo de floración.



Figura 1. Raíz pivotante de la planta de girasol
Fuente: (Ortegón,1993).

Tallo



Figura 2. Tallo ramificado de la planta de girasol
Fuente: (Ortegón,1993).

El tallo es macizo, cilíndrico, pubescente. Puede alcanzar una longitud de 25 m, algunas veces es erecto y, en otras, se inclina en la parte terminal, debajo de la cabezuela (Figura 2). En su extremidad se halla la inflorescencia o capítulo, que es única, aunque a veces el tallo se ramifica dando lugar a varios capítulos.

Hojas

Las hojas son pecioladas, de forma ovaliformes, cordiformes, acorazonadas, aserradas en el margen y pubescentes. Puede haber de 12 a 40 hojas por planta, produciendo una superficie foliar muy grande que puede ir de 3000 a 6000 cm²/ planta (Figura 3).



Figura 3. Hojas de girasol que muestra sus formas y nervaduras. Fuente: (Ortegón,1993).

Inflorescencia

La inflorescencia es en capítulo, formado por un receptáculo, éste contiene una gran cantidad de florecillas, siendo su número variable según la variedad o material genético de que se trate (Figura 4). En algunos casos se han encontrado alrededor de 500 granos (aquenios) por capítulo o florecillas por capítulo, en otros casos se han contado alrededor de 1000 florecillas.

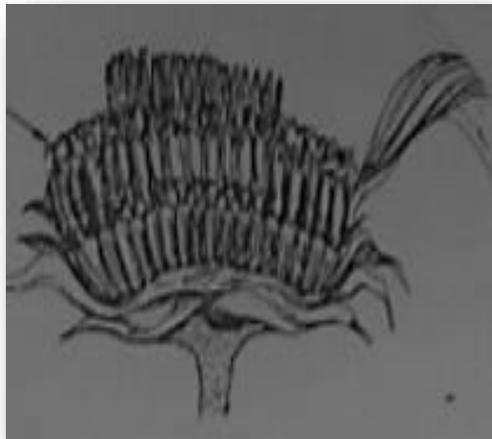


Figura 4. Capítulo floral formada por numerosas flores sobre un receptáculo discoide. Fuente: (Sánchez,1985).

La inflorescencia presenta dos tipos de flores que a continuación se describen:

a) Flores liguladas o radiadas. Son asexuadas, en número de 30 a 70, dispuestas radialmente en una o dos filas. Las lígulas tienen de 6 a 10 cm de longitud y 2 a 3 cm de ancho, su color varía entre amarillo dorado, amarillo claro o amarillo anaranjado (Figura 5). Su función es entomófila (atrae insectos) principalmente por abejas.

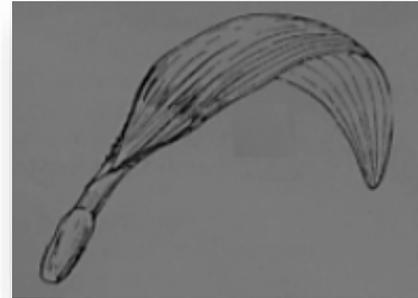


Figura 5. Flores liguladas o radiadas. Fuente: (Sánchez,1985).

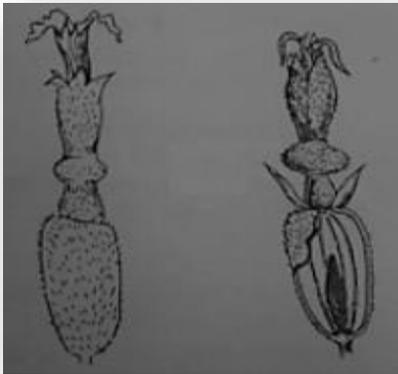


Figura 6. Flores tubulares o de disco. Fuente: (Sánchez,1985).

b) Flores tubulares o de disco. Son hermafroditas y producen las semillas. Están dispuestas en arcos espirales que se originan en el centro del disco (Figura 5).

El nombre de girasol dado a esta planta es por su trayectoria diurna de oriente a poniente y nocturna de poniente a oriente.

Fruto

El fruto es un aquenio, cuyo pericarpio (cáscara) encierra a la semilla (pepita). Es alargado y de forma romboidal, de aproximadamente 8 a 12 mm de largo y 6 mm de ancho.

Su color puede ser blanco, marrón, negro o, a menudo, oscuro con bandas blancas.



Figura 7. Aquenio del grano de girasol. Fuente: (Curvetto et al., 2005).

1.4 Fenología

Hay que tener presente 2 tipos de procesos que ocurren en las plantas y que están estrechamente relacionados entre sí, los cuales se mencionan a continuación:

- a) El crecimiento: involucra el aumento de tamaño (área/ volumen/ masa).
- b) El desarrollo: es la sucesión progresiva de las diferentes fases fisiológicas y morfológicas desde la siembra hasta la madurez (Cuadro 2).

La duración de las fases y el rendimiento del cultivo dependen en gran medida del ambiente en que se desarrollan. Entre los principales factores ambientales que influyen en cualquier cultivo, se pueden mencionar la temperatura y el fotoperíodo (UNCUYO, 2011).

CUADRO 2. Etapas fenológicas de la planta de girasol.

FASE	DURACIÓN DE LA FASE	Días
Germinación y emergencia	Desde la siembra hasta aparición de cotiledones	10-30
Formación de las hojas	Desde 4-5 pares de hojas	20-24
Diferenciación receptáculo	Desde 4-5 pares de hojas hasta 7-8	8-10
Crecimiento activo	Desde 7-8 pares de hojas hasta floración	26-28
Floración	Desde comienzo hasta fin de ésta	14-16
Formación de semilla y acumulación de aceite	Desde fin de floración hasta capítulos amarillo-verdoso	20-25
Llenado de semilla	Desde capítulo amarillo-verdoso hasta amarillo castaño	15-20

Fuente: (Luro, 1982)

En la Figura 8 se muestran los estados de desarrollo de la planta de girasol, la barra roja representa los estados críticos en donde se debe tener mayor cuidado con el cultivo para un mejor llenado del grano.

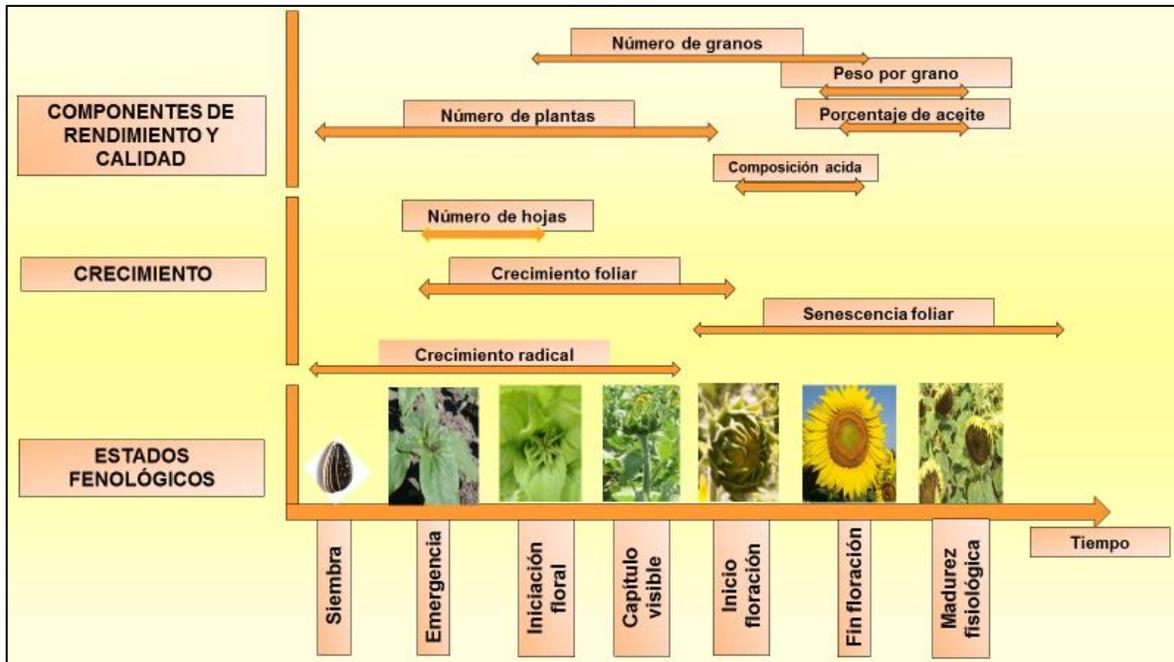


Figura 8. Estados fenológicos del girasol (UNCUYO, Ingeniería Agronómica, 2011).

1.5 Producción internacional y nacional del girasol

El cultivo de girasol ha sido una de las oleaginosas más importantes a nivel internacional en cuanto a su producción, ocupando el cuarto lugar por debajo de cultivos como la soya, cártamo y canola (FAOSTAT, 2015), ésto se debe en gran medida a su gran adaptabilidad a diversos climas, suelos y resistencia al estrés hídrico, por lo que lo ha llevado a cultivarse en diferentes partes del mundo.

En cuanto a la producción internacional los principales 10 países productores son: Federación Rusa con 20%, seguida de Ucrania 18.96%, Argentina 11.24%, China Continental 6.23%, Francia 5.08%, Rumania 4.30%, Estados Unidos de Norte América 4%, Bulgaria 3.64%, Hungría 3.62% y Turquía con 3.47% (Figura 9).

Cabe mencionar que, de los 72 países productores de grano de girasol, México ocupa el número 66 con una producción 43,332.83 ton en un promedio de dieciséis años (2000 a 2016).



Figura 9. Porcentaje de producción internacional en toneladas de grano de girasol. FAOSTAT, 2015 (Elaboración propia, 2017).

Como se observa en la figura 10, el mayor productor de grano de girasol durante los últimos catorce años es la Federación Rusa con una producción de 93,968,601 toneladas; sin embargo, a partir del año 2012 tuvo un decremento de la producción de 7,992,714, superándola Ucrania con una producción de 8,387,100 ton, apenas por 374,383 ton. Argentina ha tenido un decremento en su producción considerable con 52,432,460 ton durante los últimos diez años reflejada en el año 2001, en cuanto a China y Francia se ve una constante de producción con 29,074,366 y 23,699,728 ton, respectivamente.

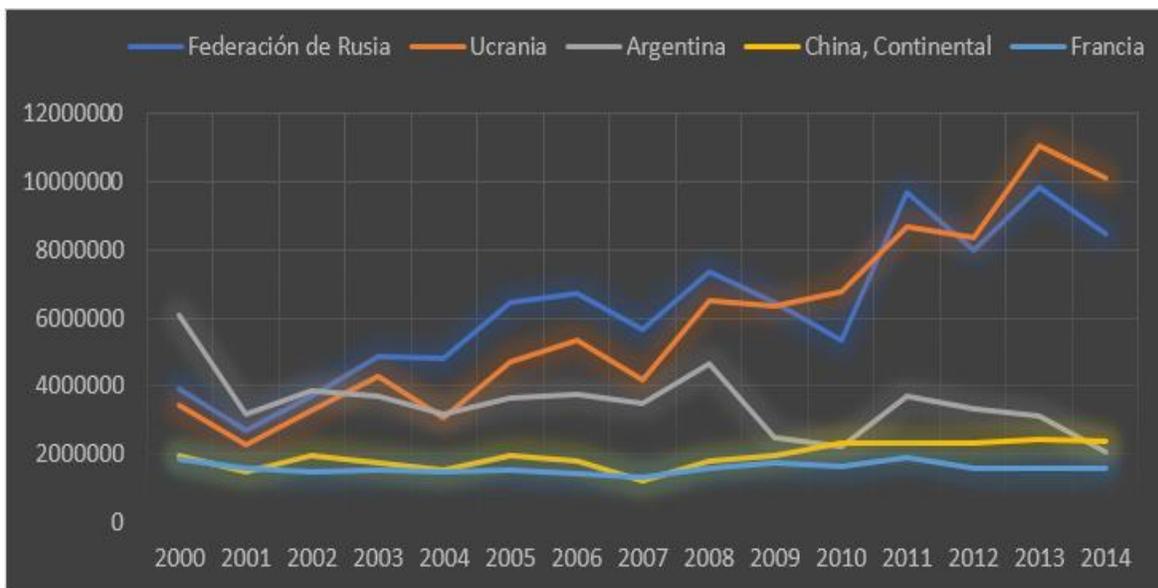


Figura 10. Producción internacional en toneladas de grano de girasol FAOSTAT, 2015 (Elaboración propia, 2017).

A pesar de que este cultivo tiene una alta adaptabilidad para cultivarse en diferentes tipos de climas, la producción del grano de girasol para consumo humano en México no ha sido representativo durante los últimos dieciséis años, sin embargo, en el 2014 tuvo un incremento significativo y para el siguiente año decreció (Figura 11).

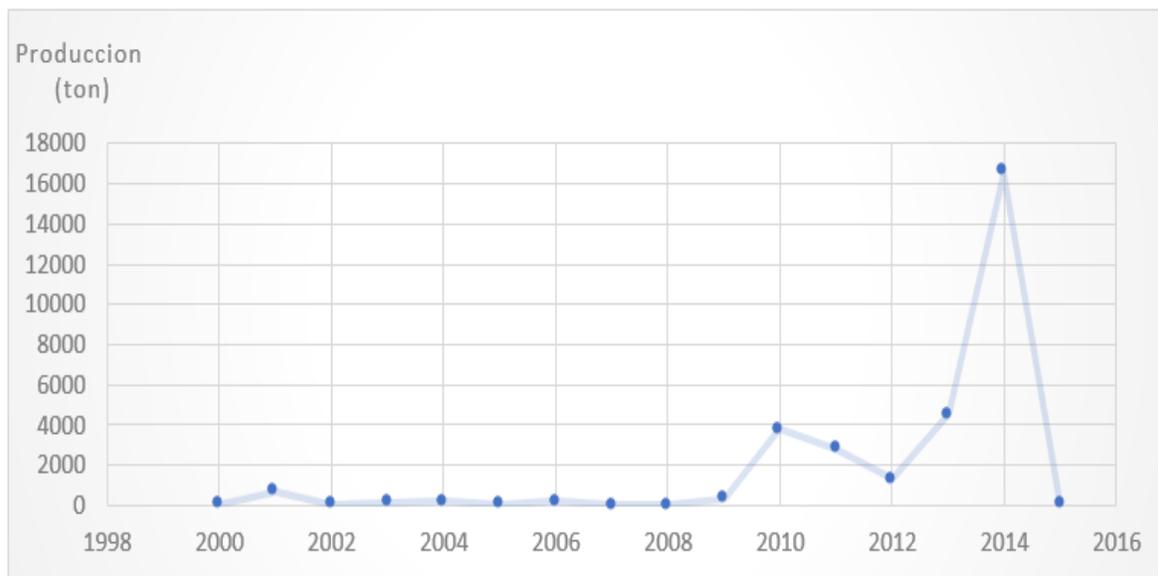


Figura 11. Producción nacional en toneladas del grano de girasol para consumo humano SIAP, 2016 (Elaboración propia, 2017).

Los estados que producen grano de girasol para consumo humano en México, de acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2017), son principalmente Zacatecas, Tamaulipas, Baja California Sur, con un 19.72, 19.38 y 19.20%, respectivamente; seguido por Jalisco, Durango y San Luis Potosí con un porcentaje de 12.38, 12.35, 7.50% y con una menor producción el Estado de México, Guanajuato, Veracruz, Sinaloa, Nayarit y Sonora con un 3.71, 2.17, 1.44, 1.20, 0.44 y 0.40%, respectivamente (Figura 12).

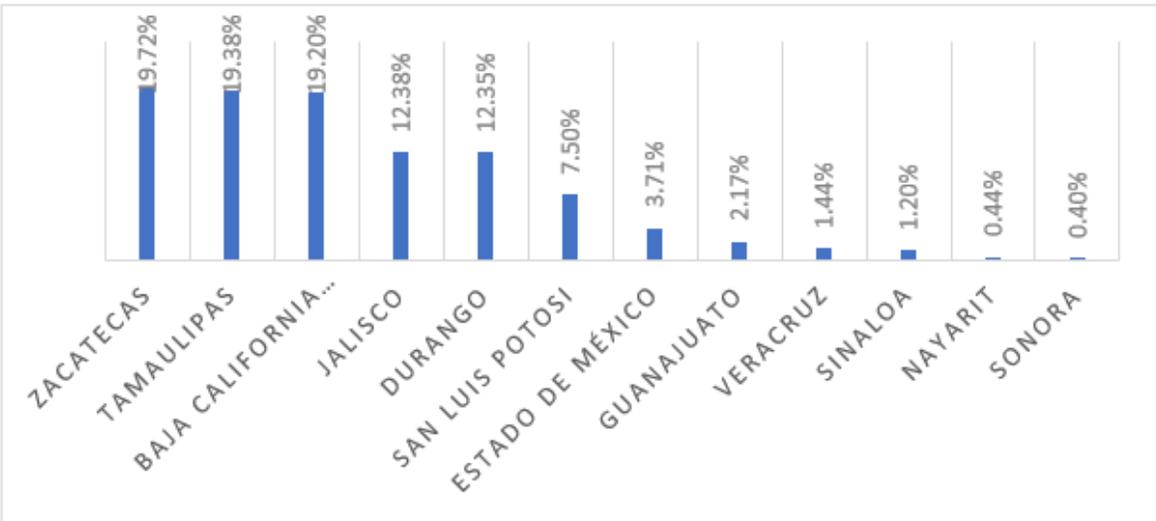


Figura 12. Producción nacional por estado en porcentaje (%) de grano de girasol para consumo humano SIAP, 2016 (Elaboración propia, 2017).

El estado que presenta una mayor superficie sembrada de grano de girasol de acuerdo a un promedio de dieciséis años (2000 a 2016) es Tamaulipas con 1,1048.88 ha, seguido de Zacatecas con 1,1036.44 ha, Durango con 4595.22 ha, Baja California Sur con 4,567 ha, San Luis Potosí con 3064.66 ha, Jalisco con 1,956.06 ha, Guanajuato con 1,888.25 ha, Sinaloa con 645.07 ha, Estado de México con 537.08 ha, Veracruz con 442 ha Nayarit con 167.4 ha y Sonora con 139 ha.

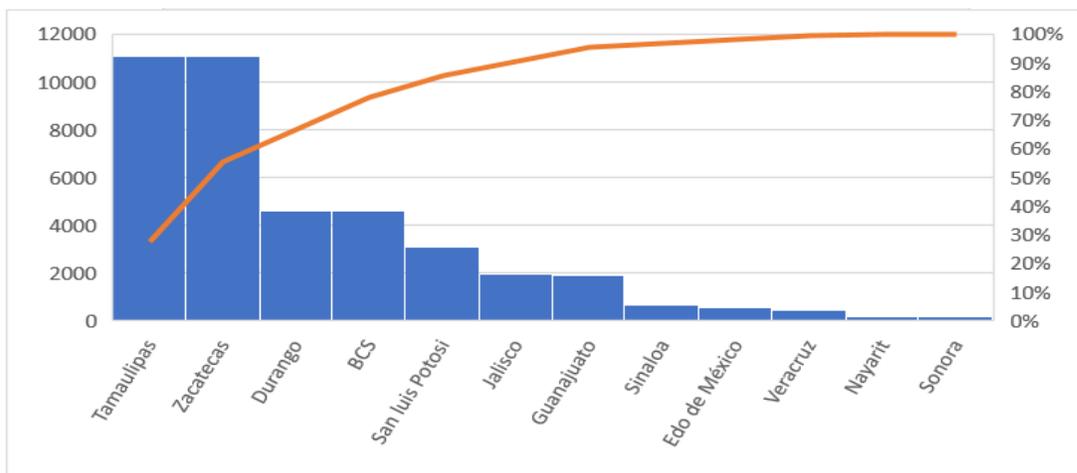


Figura 13. Superficie nacional sembrada en toneladas (ton) de grano de girasol para consumo humano SIAP, 2016 (Elaboración propia, 2017).

En cuanto a la superficie cosechada, en la Figura 14 se muestra que el estado de Zacatecas presenta la mayor cantidad de superficie cosechada, con un promedio de 10,470.85 ha, seguido de los estados de Tamaulipas 10,012.88 ha, Durango 5,063.22 ha, Baja California Sur 4,266 ha, Jalisco 3,088.15 ha, San Luis Potosí 2,773.66 ha, Guanajuato 1,586.25 ha, Veracruz 707 ha, Sinaloa con 530.07, Estado de México 517.08 ha, Nayarit 167.4 ha y Sonora 139 ha (SIAP, 2016).

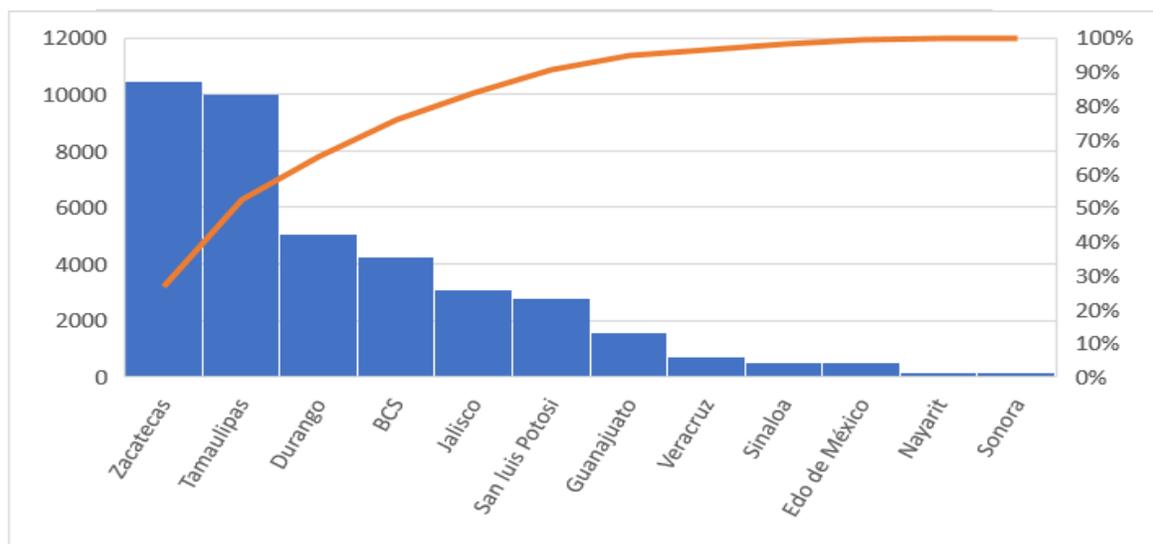


Figura 14. Superficie nacional cosechada por estado en hectáreas (ha) de grano de girasol para consumo humano SIAP, 2016 (Elaboración propia, 2017).

La producción de grano de girasol para consumo animal en los últimos dieciséis años en México no ha sido constante, como se puede observar en la Figura 15, en donde hubo producción durante los años 2000 a 2003 y durante los años 2003 al 2011 no hubo producción, sin embargo, en los años 2012 al 2015 hubo un incremento significativo, especialmente en 2014.

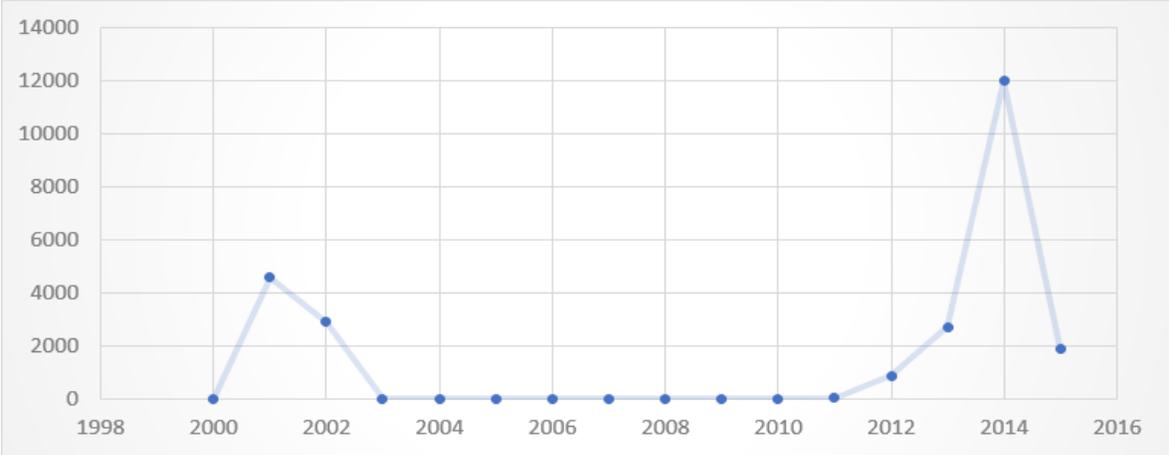


Figura 15. Producción nacional en toneladas del grano de girasol para consumo animal SIAP, 2016 (Elaboración propia, 2017).

En cuanto a la producción de grano de girasol para consumo animal a nivel nacional los estados que lo producen son Durango, Zacatecas y Jalisco, con una producción en promedio de los últimos quince años (2000 a 2015) de 24561.4 ton, 44.56 ton y 255 ton, respectivamente.

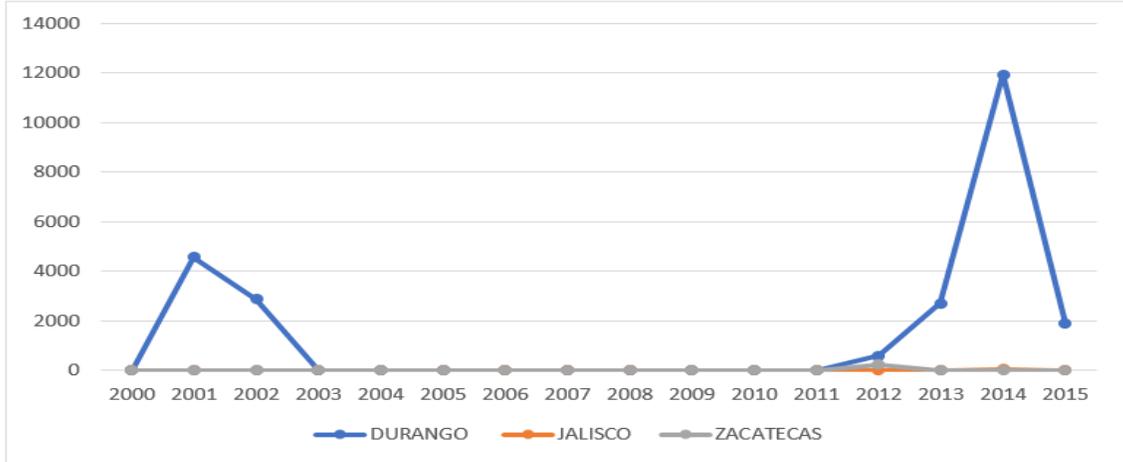


Figura 16. Producción nacional por estado en toneladas (ton) de grano de girasol para consumo animal SIAP, 2016 (Elaboración propia, 2017).

1.6 Importancia económica del grano de girasol

El principal producto de la molienda de girasol y el que contribuye, casi excluyentemente, a la formación de su precio, es el aceite. El resto, principalmente harina de proteína vegetal, se vende como insumo forrajero para la producción de carnes y leche, principalmente (ASAGIR, 2017).

De acuerdo a la FAO los principales importadores de grano de girasol son los países de la Unión Europea y Estados Unidos.

Dentro de la Unión Europea existen países como Francia, Bulgaria y Hungría que son exportadores netos de semilla de girasol. Otros países que destacan son Rusia, Rumania, Uruguay, Estados Unidos, China y Argentina (FAO, 2014).

1.7 Usos del grano de girasol

El girasol es considerado una planta oleaginosa por su alto contenido de aceite de sus granos.

El principal objetivo del cultivo del girasol es la obtención de aceite para la alimentación humana, tanto para la mesa como para la fabricación de margarinas.

El aceite de girasol que presenta una calidad muy baja se emplea en la industria para fabricar jabones y en la industria textil para fabricar tintes. El girasol también es una fuente importante de proteínas para la alimentación del ganado. Bien en forma de tortas y bagazos o bien como harinas; es, además, una planta forrajera utilizada para ensilar cuando se recolecta en el momento de la floración.

Se utiliza también como planta melífera y la miel obtenida con la ayuda de estas plantas es de calidad superior.

Existen variedades de girasol para la producción de grano para su consumo como golosinas, que tienen un contenido oleaginoso inferior a las variedades cultivadas para obtener aceite (Robles, 1982).

En los Estados Unidos los granos descascarados y tostados constituyen un excelente sustituto de las avellanas en los productos de panificación y pastelería, mediante molienda fina de los granos; de su mezcla con miel, sal y mantequilla se obtiene una pasta que se agrega al pan, muy nutritiva y de mayor preferencia para algunos consumidores que la mantequilla de cacahuete (Robles, 1982).

1.8 Propiedades nutrimentales de los granos de girasol

Los granos de girasol son un fruto aquenio de la planta de girasol (*Helianthus annuus* L.), de color grisáceo- verde, que está cubierto por una cáscara externa (pericarpio) de color negro, blanco o estriado, según la variedad de la planta.

Los granos de girasol son muy ricos en grasas (40%), proteínas (30%), hidratos de carbono (20%) y constituyen una buena fuente de energía, rica en fibra (3%), vitaminas (3%) y minerales (4%).

1.8.1 Composición de los granos de girasol

Los granos de girasol contienen una importante fuente de nutrientes claves, en una alimentación saludable: destaca su alto contenido de ácidos grasos esenciales, o tipo de grasas que el organismo necesita para realizar sus funciones y que ha de obtener de los alimentos.

Dentro del tipo de grasas que contiene, los granos de girasol aportan principalmente ácido linoleico (omega 6), aunque también cierta cantidad de ácido linolénico (omega 3). Los granos también constituyen una importante fuente de proteínas vegetales, que se recomienda combinar con otros alimentos ricos en el aminoácido lisina, como las legumbres. Las vitaminas que aporta son principalmente la vitamina E (22mg), tiamina o B1 (27%), riboflavina, niacina (10%). Entre su aporte de minerales destaca el potasio (740 mg), fósforo (599 mg), magnesio (399 g) y calcio (99 mg).

1.8.2 Granos de girasol y beneficios de sus aceites esenciales

En los últimos años se ha producido una valoración muy interesante del impacto nutrimental que aportan los granos de girasol dentro de la alimentación y sus propiedades.

La característica más destacable acerca de la composición nutrimental del girasol es su aporte en ácidos grasos esenciales y lecitina, junto con el antioxidante natural de estas grasas, la vitamina E; y riboflavina, que estimula la actividad antioxidante de la vitamina E, potenciando así su efecto, también contiene otros compuestos no nutritivos de acción antioxidante (colina, betaina, lignano y ácidos fenólicos), cuyo consumo se relaciona con un menor riesgo de enfermedades degenerativas, cardiovasculares y de cáncer.

También contiene tiamina o vitamina B1, que tiene un papel primordial en la nutrición del sistema nervioso (MAPAMA, 2013).

1.8.3 Riqueza en aminoácidos de los granos de girasol

Los granos de girasol son uno de los alimentos con mejor calidad de proteína vegetal debido a su alta proporción en aminoácidos esenciales (Cuadro 3). Los aminoácidos son necesarios para numerosas funciones en el organismo, principalmente funciones neurológicas por que forman parte de los neurotransmisores y musculares.

Encabeza la lista de los alimentos vegetales más ricos en alanina, histidina, cisteína, glutamina, además es rico en aminoácidos esenciales como fenilalanina, metionina (aminoácido limitante en las legumbres), y los tres aminoácidos de cadena ramificada, importantes para los deportistas: valina, isoleucina y leucina. Los granos contienen 200 mg de calcio por cada 100 g, la misma cantidad que aporta la leche. Además, contiene magnesio (390 mg /100 g) (MAPAMA, 2013).

Cuadro 3. Composición nutricional del grano de girasol para consumo humano.

Información Nutricional	Por 100 g de porción comestible	Por puñado de 25 g	Recomendación día/hombres	Recomendación día/mujeres
Energía (Kcal)	580	104	3.000	2.300
Proteínas (g)	27	4.9	54	41
Lípidos totales (g)	43	7.7	100-117	77-89
AG saturados (g)	5.63	1.01	23-27	18-20
AG monoinsaturados (g)	13.7	2.47	67	51
AG polinsaturados (g)	21.52	3.87	17	13
3 (g)*	0.122	0.022	3.3-6.6	2.6-5.1
C18-2 linoleico (Ω-6) (g)	21.4	3.852	10	8
Colesterol (mg/1000 kcal)	0	0	<300	<230
Hidratos de carbono (g)	20	3.6	375-413	288-316
Fibra (g)	2.7	0.5	>35	>25
Agua (g)	7.3	1.3	2500	2000
Calcio (mg)	110	19.8	1.000	1.000
Hierro (mg)	6.4	1.2	10	18
Yodo (µg)	--	--	140	110
Magnesio (mg)	390	70.2	350	330
Zinc (mg)	5.1	0.9	15	15
Sodio (mg)	3	0.5	<2.000	<2.000
Potasio (mg)	710	128	3.500	3.500
Fósforo (mg)	651	117	700	700
Selenio (µg)	49	8.8	70	55
Tiamina (mg)	1.6	0.29	1.2	0.9
Riboflavina (mg)	0.19	0.03	1.8	1.4
Equivalentes niacina (mg)	9.1	1.6	20	15
Vitamina B6 (mg)	--	--	1.8	1.6
Folatos (µg)	--	--	400	400
Vitamina B12(µg)	0	0	2	2
Vitamina C (mg)	0	0	60	60
Vitamina A: equivalente	3	0.5	1.000	800
Retinol (µg)	0	0	15	15
Vitamina D (µg)	37.8	6.8	12	12
Vitamina E (mg)				

Cuadros de Composición de Alimentos. Moreiras y col., 2013. (PIPAS DE GIRASOL CON CÁSCARA). Recomendaciones: ■ Ingestas Recomendadas/día para hombres y mujeres de 20 a 39 años con una actividad física moderada. Recomendaciones: ■ Objetivos nutricionales/día. Consenso de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria, 2011. Recomendaciones: ■ Ingestas Dietéticas de Referencia (EFSA, 2010). 0: Virtualmente ausente en el alimento. —: Dato no disponible. *Datos incompletos.

FUENTE: MAPAMA 2013

1.9 Grano de girasol para consumo animal

El girasol constituye también una fuente importante de proteínas para la alimentación animal. En la elaboración de una tonelada de semillas para extraer aceite, se obtiene un promedio de 300 kg de tortas y residuos, lo que representa una fuente suplementaria de proteínas en las raciones de animales y aves de corral.

El valor nutritivo elevado de las tortas y del bagazo está determinando por la composición de los aminoácidos de las proteínas.

Un kilogramo de tortas de girasol contiene: 12.8 g de glicina, 5.09 g de triptófano, 6.5 g de tirosina, 2.69 g de cistina, 29.3 g de arginina y 8.7 g de histidina. La lisina es el primer aminoácido limitativo que se encuentra en menor cantidad en comparación con la soya. En lo que se refiere a la energía total, se ha establecido que ésta es similar a la harina de soya (20.180 KJ y 20.364 KJ/kg, respectivamente) (Viorel, 1977).

El valor nutritivo de las tortas y del bagazo de girasol es grande, por la presencia de otras sustancias nutritivas como: grasas, fosfatinas y sales minerales.

Las cáscaras que quedan después de la extracción del aceite se pueden moler y utilizar como ingrediente en las raciones de los rumiantes, absorbiendo fácilmente la melaza y dando un sabor agradable a la mezcla de los concentrados. De las cáscaras se obtiene levadura forrajera, un valioso forraje proteico para los animales y las aves de corral. De una tonelada de cáscara se pueden obtener 150 kg de levadura forrajera, que contiene 14-23 % de proteína, 6-8 de glucógeno, 1.8 % de celulosa, 0.9% de grasas brutas, 1.8-2.3 % de ceniza y 68- 75% de agua (Suslov, 1977; FEDNA, 2017).

1.10 Calidad de granos y semillas

El valor económico, alimenticio, agrícola e industrial asociado a los granos y semillas, demanda cuidados especiales en el almacén para garantizar la conservación de su calidad; ésta debe mantenerse durante el tiempo que permanecerán en condiciones de almacenamiento y hasta el momento en que serán utilizados.

Para garantizar la disponibilidad de granos y semillas en la cantidad, así como con la oportunidad y calidad requeridas, es necesario recurrir a su almacenamiento y conservación. El almacenamiento se refiere a concentrar la producción en lugares estratégicamente seleccionados; en tanto que la conservación implica proporcionar a los productos almacenados las condiciones necesarias para que no sufran daños por la acción de plagas, enfermedades o del medio ambiente, evitando así mermas en su peso, reducciones en su calidad o en casos extremos la pérdida total (SAGARPA, 2017).

1.10.1 Calidad sanitaria

Los hongos que invaden los granos y semillas se clasifican por sus características ecológicas en tres categorías: hongos de campo, hongos de almacén y hongos de deterioro avanzado (Moreno, 1988).

- **Hongos de campo**

Corresponden principalmente a especies de los géneros *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Acremonium*, *Cladosporium*, *Diplodia*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Heminthosporium*, *Nigrospora*, etc. (Moreno,1988). Son considerados hongos de campo ya que éstos atacan al cultivo en sus diferentes fases de desarrollo provocando el debilitamiento de la planta, hasta la muerte de la misma, teniendo como consecuencia pérdidas económicas importantes en el cultivo (Figura 17).

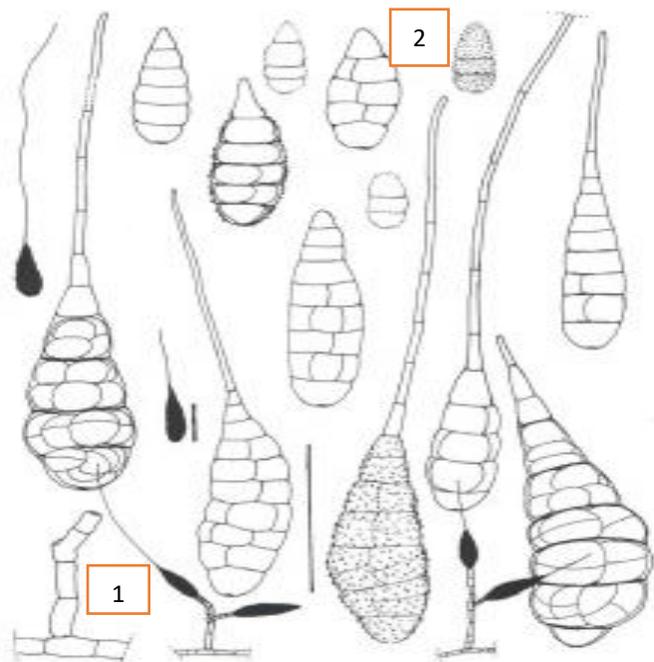


Figura17. Tipos de conidios de *Alternaria helianthificiens*: 1. Conidióforo. 2. Diferentes tipos de conidios. Fuente: (Simmons, 2007).

- **Hongos de almacén**

Los hongos que se consideran de almacén son aquellos que pueden crecer bajo condiciones en que normalmente almacenan los granos y las materias primas que se utilizan en la elaboración de los alimentos para el hombre y los animales domésticos. Siendo éstos principalmente especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* (Figura 18 y Figura 19). En el caso del girasol el contenido de humedad recomendado para su almacenamiento es de 8-9%.



Figura 18. Desarrollo de *Aspergillus flavus* en CYA 37°C.

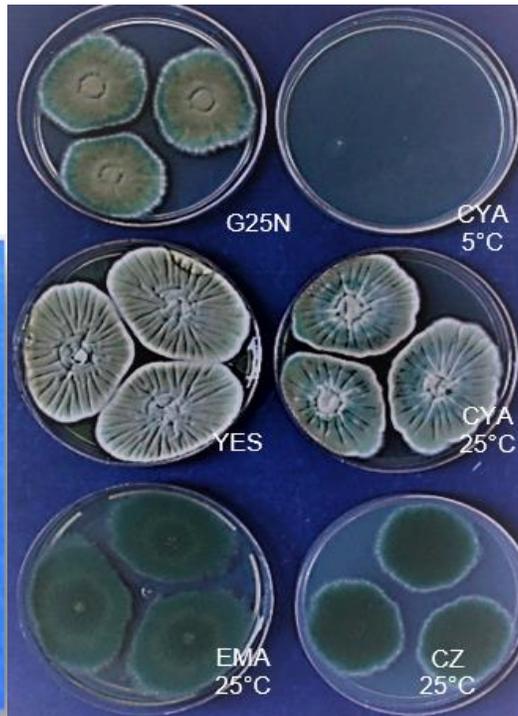


Figura 19. Macromorfología de *Penicillium expansum* en medios de cultivo G25N 25°C, CYA 5°C, YES, CYA 25°C, EMA 25°C, CZ 25°C.

- **Hongos de deterioro avanzado**

Hongos como *Absidia*, *Aspergillus clavatus*, *A. fumigatus*, *A. niger* (Figura 20), *Paecilomyces* (Figura 21), *Chaetomium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Trichoderma viride*, *Trichothecium*, entre otros, son considerados

hongos de deterioro avanzado, ya que éstos se presentan en condiciones pésimas de almacenamiento, se desarrollan en humedades relativamente altas superiores al 90% (Moreno, 1988).

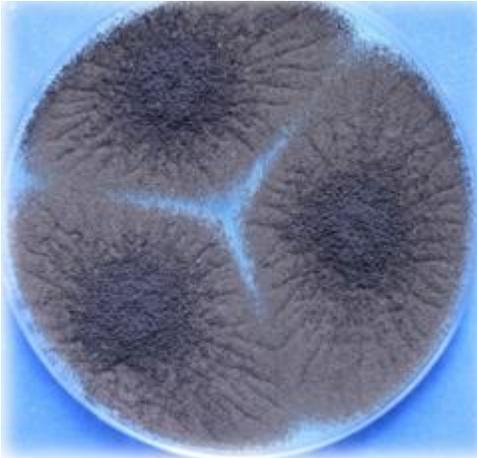


Figura 20. Colonia de *Aspergillus niger*, en CYA 25°C aislado de grano de girasol.



Figura 21. *Paecilomyces*: aislado de grano de girasol, de izquierda superior a derecha macromorfología en G25N, EMA, y YES 25°C, de izquierda inferior a derecha en CZ, CYA 25°C y CYA 5°C.

1.10.2 Calidad del grano de girasol

En el grano con características físicas poco adecuadas, especialmente en el caso de una conservación en condiciones no favorables, tienen lugar procesos de degradación que conllevan a pérdidas importantes de sustancias orgánicas.

Durante la conservación, las semillas pueden sufrir procesos de degradación principalmente debido a:

- ✓ Procesos provocados por la acción de fermentación, que determinan la descomposición de las sustancias orgánicas (respiración del grano, descomposición de las grasas acompañada por la formación de ácidos grasos libres, oxidación de las grasas, etc.).
- ✓ Procesos provocados por la acción de factores bióticos, especialmente de microorganismos (hongos, bacterias, insectos, entre otros).

- ✓ Procesos de carácter Físico químico, causados por el aumento intenso de la temperatura y humedad, en el caso de que se calienten las semillas (Viorel, 1977).

Smith (1978) señala que se debe practicar un análisis físico de la semilla o grano de cada lote que se reciba; muestras de 1 kg de semilla son suficientes para determinar el porcentaje de humedad y calidad de la misma.

1.11 Cuidados durante la cosecha y almacenamiento del grano de girasol (manejo postcosecha)

El momento óptimo de la recolección está relacionado con la madurez del capítulo y el contenido de agua del grano, el primero tiene que ver con el máximo contenido de aceites del grano; el segundo, con su conservación (Del Valle, 1987).

Cuando las plantas terminan la fase de rellenado del grano, el capítulo es de color amarillo; a partir de entonces, el contenido de aceite ya no se modifica, ya en reposo fisiológico, empieza el proceso de secado, el final de la fase de secado del grano se puede determinar por la humedad de las semillas, que en este caso es de un 30-40 %. A medida que pasa el tiempo va disminuyendo el porcentaje de agua.

La recolección no debe efectuarse cuando los capítulos están muy secos ya que aumentan las pérdidas por el desprendimiento del grano.

Si la recolección se hace con cosechadora, la humedad óptima del grano para que las pérdidas sean mínimas oscila entre los 10 ó 12 %; en cambio si se recolectan con un 6% de contenido de humedad, las pérdidas pueden ser de un 8 a 12% (Del Valle, 1987).

- **Conservación del grano**

El grano puede recolectarse desde el momento en que alcanza un contenido de humedad del 20%, pero no debe conservarse con uno superior al 9%, ya que por encima de éste sufre alteraciones que repercuten en el rendimiento de aceite y en su calidad.

Los factores principales que intervienen para una buena conservación del grano son la humedad y la temperatura, daños mecánicos en el pericarpio y la presencia de impurezas. Cuando la humedad es alta, se producen alteraciones en las grasas, además, favorece el ataque de microorganismos pudiendo ocasionar cambios organolépticos y deterioro del grano de girasol.

Los daños mecánicos en la cáscara facilitan el desarrollo de hongos y otros microorganismos que alteran la calidad del girasol.

La presencia de impurezas, las cuales presentan un alto contenido de humedad, provocan fermentaciones y con ello se elevan las temperaturas; también pueden ser fuente de infecciones, en los residuos vegetales de las plantas, que se encuentran como impurezas en el grano, pueden producir también procesos de degradación acompañados por emanación de calor y humedad, lo que lleva al auto calentamiento y al empeoramiento de las condiciones de conservación del grano (Viorel 1977; Del Valle, 1987; ASAGIR, 2015).

Para tener una buena conservación del grano es necesario realizar la limpieza, secado y ventilación adecuada (Del Valle, 1987).

- **Limpieza**

Las impurezas en el grano de girasol se pueden separar fácilmente con la ayuda de una corriente de aire o con la ayuda de tres tamices. El primero con orificios de un diámetro de 15-18 mm, el segundo de 8-12 mm, y el tercero de 3 mm (Viorel 1977; Del Valle, 1987).

- **Secado del grano**

Al tener un alto contenido de humedad sufren procesos metabólicos, que tienen el efecto de calentamiento, con lo que disminuye la calidad del aceite. Es por ello que debe disminuirse el contenido de humedad del grano, teniendo en cuenta que, a mayor cantidad de aceite, la humedad que debe contener, para una buena conservación, debe ser menor que en el caso de granos con contenido oleaginoso inferior. El secado se puede efectuar de manera manual o mecánica; el primero es

exponiendo las semillas al sol y el segundo utilizando máquinas que proporcionan aire caliente (Del Valle, 1987).

Se puede realizar un secado exitoso tanto a baja temperatura (silo o celdas) como en sistemas continuos de alta temperatura. Esto ocurre debido a ciertas características físicas y propiedades químicas (composición) particulares del grano de girasol, el cual es de tamaño relativamente grande, por lo que dejan espacios porosos de gran tamaño por donde el aire circula con facilidad (ASAGIR, 2015).

Desde el punto de vista de la calidad, la temperatura de secado de hasta 105 °C, no tiene efecto adverso en el rendimiento de aceite o la composición de ácidos grasos. Sin embargo, si el objetivo es secar para producir semilla, la temperatura de secado es recomendable que no sea superior a los 43 °C.

- **Almacenamiento**

Para el almacenamiento se debe considerar que, en los almacenes, las capas de los granos no deben superar una altura de 1.5 m y el grano seco 3.5 m de altura, evitando así un aumento de la temperatura en la masa del grano ya que ésta no debe superar los 5 °C (Ortegón, 1993). En caso contrario, se debe dar aeración al grano, ya que un buen manejo de temperatura puede ayudar a disminuir o controlar la presencia de hongos de almacén.

Así mismo, es importante considerar que la temperatura no es un factor estrictamente limitante para desarrollo de hongos, ya que su rango de desarrollo es muy amplio e inclusive logran hacerlo a temperaturas por debajo de los 0 °C (ASAGIR, 2015).

En cambio, la condición que realmente limita el desarrollo de microorganismos es la humedad relativa. Los hongos que crecen con mayor frecuencia en el campo, tales como *Fusarium*, *Cladosporium* y *Alternaria*, son sustituidos en el almacenamiento por especies que se adaptan a condiciones xerófilas, como especies de *Penicillium* y *Aspergillus*. Los hongos también pueden reducir la viabilidad de las semillas, así como causar su decoloración y manchas (Navarro y Noyes, 2001).

En el Cuadro 4, se mencionan los factores que coadyuvan el desarrollo de hongos en almacén.

Cuadro 4. Condiciones de humedad relativa de equilibrio para el desarrollo de hongos en granos almacenados.

Hongos	HRE mínima (%)	Temperatura de crecimiento (°C)		
		Mínima	Óptima	Máxima
<i>Alternaria</i>	91	-3	20	30-40
<i>Aspergillus candidus</i>	75	10	28	44
<i>A. flavus</i>	82	6-8	36-38	44-46
<i>A. fumigatus</i>	82	12	37-40	50
<i>Eurotium</i>	72	8	25	38
<i>A. restrictus</i>	71-72	-	-	-
<i>Cephalosporium acremonium</i>	97	8	25	40
<i>Epicoccum</i>	91	-3	25	28
<i>F. verticillioides</i>	91	4	28	36
<i>F. graminearum</i>	94	4	25	32
<i>Mucor</i>	91	-3	28	36
<i>Nigrospora oryzae</i>	91	4	28	32
<i>Penicillium funiculosum</i>	91	8	30	36
<i>P. oxalicum</i>	86	8	30	36
<i>P. brevicompactum</i>	81	-2	23	30
<i>P. cyclopium</i>	81	-2	23	30
<i>P. viridicatum</i>	81	-2	23	36

HRE: humedad relativa de equilibrio

FUENTE: ASAGIR, 2015

El porcentaje de aceite afecta significativamente el contenido de humedad (CH) del grano de girasol. Los granos de oleaginosas, que tienen un mayor contenido de aceite que los cereales, absorben menos agua a una misma HR (Pixton y Warburton, 1971). Esto es de particular importancia para el girasol, ya que para híbridos con contenidos de aceite bajo (menos de 40%) el contenido de humedad de almacenamiento seguro estaría entre 11 y 12.5% para el rango de temperaturas entre 0 y 35 °C; para híbridos con contenidos de aceite superiores al 44% el CH será por debajo del 11%, en el caso de híbridos con contenido de aceite mayor al 48% debe ser menor al 8.5%, aun en temperaturas bajas. (Maciel et al, 2015).

1.12 Hongos que afectan la calidad del girasol

Se conocen aproximadamente más de 35 enfermedades en el girasol, de las cuales 20 son provocadas por hongos (Robles, 1982). Cabe destacar que las enfermedades se intensifican cuando el girasol se cultiva después de sí mismo, o se repite a intervalos cortos de tiempo en el mismo terreno, así como cuando se cultiva después de plantas que sufran ataques de las mismas enfermedades (Robles, 1982).

Es importante mencionar que, al momento de cosecha, la recolección puede comenzar a partir del 16% de contenido de humedad, pero hay que tratar de realizarlo cuando está entre un 11 y 13 %. En términos generales es aconsejable empezar a cosechar con una humedad del 13 al 15 %, para luego complementar con secado artificial hasta bajar a un 9% a fin de guardar sin inconveniente el akenio, ya que la humedad es importante para evitar el desarrollo de hongos de almacén, principalmente especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* (Robles, 1982).

En el Cuadro 5 se menciona el contenido de humedad que propicia el desarrollo de hongos en el grano de girasol según Moreno (1988).

Cuadro 5. Contenido de humedad en equilibrio con humedad relativa de 65 a 90%

Humedad relativa (%)	Contenido de Humedad (%)	Especies de hongos
65-70	5.0-6.0	<i>A. halophilicus</i>
70-75	6.0-7.0	<i>A. restrictus</i> , <i>Eurotium</i>
75-80	7.0-8.0	<i>A. candidus</i> , <i>A. ochraceus</i> <i>A. halophilicus</i> , <i>A. restrictus</i> , <i>Eurotium</i>
80-85	8.0-10.0	<i>A. flavus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>A. candidus</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. halophilicus</i> , <i>A. restrictus</i> , <i>Eurotium</i>
85-90	10.0-12.0	<i>Penicillium</i> , <i>A. candidus</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. halophilicus</i> , <i>A. restrictus</i> , <i>Eurotium</i>

Fuente: Moreno; 1988 (Elaboración propia 2017)

A continuación, se describen las dos enfermedades que afectan al cultivo de girasol.

- **Podredumbre blanca del girasol (*Sclerotinia sclerotiorum*)**

Es una enfermedad extendida por todo el mundo. La planta puede ser atacada en todos los estados de desarrollo, pero su sensibilidad es mayor durante la emergencia y en la fase de formación del capítulo. En las plantas jóvenes, los primeros síntomas aparecen en la base del tallo a modo de manchas oscuras, hasta que el tallo termina por pudrirse. Los tejidos de la parte afectada por el micelio del hongo se vuelven blandos, de color castaño. Lo que origina el marchitamiento y muerte de la planta.

Invade los peciolos de las hojas, el limbo y los capítulos florales. Si el capítulo atacado no llega a caerse, las semillas que en ellos se forman son de tamaño pequeño, secas y con un sabor desagradable (Del Valle, 1987).

Medidas preventivas y de control

Se recomienda la rotación del cultivo del girasol de seis a siete años, evitar el exceso de humedad y los terrenos bajos, aplicar de forma racional abonos orgánicos, realizar labores profundas (INTA, 2014).

- **Mildiú (*Plasmopara helianthi*)**

Es una de las enfermedades más severas para el girasol. Se manifiesta en toda la fase del cultivo y sus daños son mayores cuando más temprano se presenta la infección. Es un hongo que vive en los espacios intracelulares de la planta (endoparásito).

El ciclo de enfermedad del hongo comienza cuando la temperatura del suelo supera los 12°C con una humedad atmosférica del 99% y temperatura de 22°C.

El síntoma característico de la enfermedad es el de enanismo, es decir, la disminución del crecimiento de las plantas. Si la infección tiene lugar cuando la planta está en fase de germinación no llega a desarrollar los capítulos, crece lentamente, el aparato radicular no se desarrolla de manera normal y la planta queda en estado raquíptico.

Las hojas de la planta presentan en la parte superior unas manchas cloróticas en forma de mosaico: parten de la base de las hojas y siguen la nervadura principal y

las secundarias; en el envés de las hojas se forma un micelio en forma de una capa blanca (Robles, 1982).

Medidas preventivas y de control

Emplear semillas híbridas certificadas tratadas con anticriptogámicos o fungicidas específicos para controlar las infecciones que se originan en el suelo y en las que pudieran provenir de las semillas infectadas (INTA, 2014).

- **Mancha por *Alternaria helianthificiens***

Puede aparecer en cualquier etapa del desarrollo de la planta, los síntomas típicos son manchas de color café o negro rodeadas por un halo clorótico en las hojas; cuando la humedad relativa es alta, el centro de las manchas toma un color gris a causa de la esporulación del hongo (Figura 22 y Figura 23), en condiciones severas el tallo y capítulo son atacados: el tallo presenta lesiones longitudinales oscuras de 5 a 15 mm, el capítulo muestra pequeñas manchas cafés principalmente en la parte posterior. En la plántula causa estrangulamiento.

En la semilla *A. helianthificiens* produce una toxina que reduce la germinación de la semilla y el desarrollo radical del girasol (Ortegón,1993).



Figura 22. Manchas en el capítulo y tallo del girasol características de la infección por *Alternaria helianthificiens*. Fuente: (Ortegón,1993).



Figura 23. Lesiones causadas por *Alternaria helianthificiens* a hoja de girasol. Fuente: (Ortegón,1993).

Medidas preventivas y de control

Las prácticas culturales como la rotación de cultivos, labores de roturación de suelo, que entierran y promueven la descomposición de los residuos, favorecen la disminución del inóculo primario. La correcta elección de la fecha de siembra debe ser complementada con la elección de un cultivar de buen comportamiento ante la enfermedad y semilla libre de patógeno. Si bien no existe resistencia completa a esta enfermedad, los materiales comerciales presentan diferencias en su comportamiento. Pulverizaciones de fungicidas foliares entre botón floral y fin de floración a dosis de 80 - 150 g/ha de estrobilurina en combinación con triazol (Syngenta, 2014).

- **Cenicilla (*Erysiphe cichoracearum*)**

También es conocido como mildiú polvoso del girasol, los síntomas de la enfermedad se presentan durante la etapa de floración. Al principio, en las hojas primarias de la planta aparecen pequeñas manchas con un polvillo blanquecino, característica del estado asexual del hongo (Figura 24). Esta mancha crece hasta cubrir toda la superficie de la hoja, posteriormente se muestra clorótica y muere, en casos críticos, la infección puede presentarse en las hojas superiores, en el tallo y capítulo. Lo cual origina una madurez prematura de la planta (Ortegón,1993).



Figura 24. Follaje de una planta de girasol atacada por *E. cichoracearum*, agente causal de la cenicilla. Fuente: (Ortegón,1993).

Medidas preventivas y de control

Sembrar variedades resistentes o tolerantes a la enfermedad, aplicación de azufre (cuando las temperaturas sean inferiores a 25 °C) (INTA, 2014).

- **Pudrición sureña (*Sclerotium*)**

La temperatura óptima para el desarrollo micelial se encuentra entre 30 y 35 °C, los primeros síntomas se observan durante o después del periodo de floración. La infección de la planta se manifiesta con el marchitamiento general, y en la base del tallo y raíz se presenta una pudrición, por lo que al final la planta muere. Sobre la superficie de la base del tallo y raíz se observa un abundante micelio blanco algodonoso (Ortegón,1993).



Figura 25. Micelio y esclerocios de *Sclerotium rolfsii* desarrollados en medio de cultivo. Fuente: (Ortegón,1993).

Medidas preventivas y de control

Destrucción de los residuos de cosechas. Combate adecuado de malezas en el cultivo de girasol y la rotación de cultivos resistentes como maíz, sorgo, trigo y otras gramíneas. Adición de algunos mejoradores orgánicos al suelo pueden ser efectivos (Syngenta, 2014).

- **Pudrición carbonosa (*Macrophomina phaseolina*)**

Los síntomas característicos son marchitez general y posteriormente la muerte de la planta. En la base del tallo y raíz, es común observar esclerocios negros que dan un aspecto carbonoso al tejido infectado (Figura 26 y Figura 27).

Las temperaturas que han causado mayor mortalidad son de 25 a 34 °C y las condiciones de humedad del suelo no tienen influencia en la aparición de este fitopatógeno, observando mayor incidencia a menor humedad en el suelo.

Los daños ocasionados por la enfermedad han estimado que reduce en un 30% el peso de la semilla del girasol. Se ha demostrado que el hongo puede ser transmitido por la semilla (Ortegón,1993).



Figura 26. Desarrollo de *Macrophomina phaseolina* en medio de cultivo. La parte oscura se debe a la formación de esclerocios. Fuente: (Ortegón,1993).



Figura 27. Corte longitudinal de la base del tallo y de la raíz de girasol en donde se observa el tejido infestado por *M. phaseolina*. Fuente: (Ortegón,1993).

Medidas preventivas y de control.

Se deben realizar prácticas agronómicas y estratégicas de cultivo encaminadas a evitar el estrés hídrico (INTA, 2014).

- **Pudrición del capítulo por *Rhizopus***

La parte afectada de la planta es el capítulo, se puede observar una mancha irregular en la parte posterior, al crecer el tejido forma una consistencia blanda y la mancha presenta un color café. La pudrición puede alcanzar la totalidad del capítulo y la presencia del hongo es evidente al formar el micelio blanquecino con numerosos esporangios negros (Figura 28).

La susceptibilidad del capítulo a *Rhizopus* se incrementa con la edad (Figura 29), así como el daño causado por pájaros e insectos, como lo es la palomilla del girasol *Homoeosoma electellum* Húlst (Ortegón,1993).



Figura 28. Síntoma causado por *Rhizopus* sp. en el capítulo de 12 a 15 cm. Fuente: (Ortegón,1993).



Figura 29. Síntomas causados por *Rhizopus* sp. en la hoja. Fuente: (Ortegón,1993).

Medidas preventivas y de control

Se debe evitar la siembra en épocas cuando predomine la alta humedad relativa. Actualmente su baja incidencia no amerita el uso de fungicidas, sin embargo, se puede aplicar una solución de 0.2% en quinolato 20 (8- quinolinolato de cobre) al final de la floración aparecen los primeros capítulos afectados (INTA, 2014).

- **Roya (*Puccinia helianthi*)**

Los síntomas comunes de la enfermedad consisten en pústulas pequeñas circulares, que contienen un polvillo color naranja o negro y pueden estar presentes en cualquier parte aérea en las hojas; las temperaturas óptimas para su desarrollo son entre 20-25 °C (Ortegón,1993).

Medidas preventivas y de control

Emplear cultivares con resistencia genética, utilizar MANCOZEB (INTA, 2014).

- **Pudriciones por *Phymatotrichum*, *Fusarium* y *Rhizoctonia***

Los síntomas se presentan en las hojas provocando marchitez y posteriormente mueren.

Phymatotrichum omnivorum causa síntomas en la raíz de las plantas infectadas, mostrando los típicos cordones miceliares del hongo como un signo característico de la enfermedad.

Fusarium spp. se caracteriza por producir en el cuello y tallo de la planta, lesiones café y comúnmente se observan conidios y micelio del hongo que dan una coloración azul- verde.

Rhizoctonia sp. se presenta en tallos formando lesiones hundidas, de color café o negro a nivel del suelo (Ortegón,1993).

Medidas preventivas y de control

Quizás por no ser importante a nivel mundial, el conocimiento sobre el control es limitado (Ortegón,1993).

- **Podredumbre gris (*Botrytis cinerea*)**

Denominada también podredumbre del capítulo. Las plantas son atacadas desde los primeros momentos de su desarrollo, causando una decoloración. Las hojas pierden turgencia, se suavizan y se pudren. Si la infección es severa, la planta se cubre de un polvo gris formado por los conidióforos y los conidios del hongo.

La infección sobre los tallos aumenta si la humedad atmosférica es elevada, cubriéndolo de un polvo gris-verdoso.

En los capítulos, los síntomas característicos son unas manchas oscuras que aparecen en partes del tejido que posteriormente acaban por pudrirse; las semillas invadidas también presentan manchas y tienen un sabor desagradable. Esta enfermedad es fácilmente transmitida por la semilla (Guerrero et al., 1977).

Medidas preventivas y de control

Como la manifestación se presenta más en los capítulos, se recomienda tratar las semillas con fungicidas antes de la siembra (INTA, 2014).

- **Mancha negra del tallo *Phoma macdonaldii* (*Leptosphaeria lindsquistii*)**

La mancha negra del tallo puede manifestarse durante todo el ciclo del girasol, aunque la mayor susceptibilidad se observa desde floración hasta la madurez fisiológica. Afecta a nervaduras y pecíolo de hoja, tallo y capítulo. Acelera la senescencia de hojas produciendo mermas en el rendimiento de hasta 15 % (INTA, 2014).

Medidas preventivas y de control

Labores de roturación de suelo, uso de semilla libre de patógenos, rotación de cultivos con especies no hospedantes favorecen la disminución del inóculo primario. Selección de genotipos de buen comportamiento. Aplicación de fungicidas foliares en base a estrobilurinas con triazol desde botón floral hasta fin de floración (INTA, 2014).

Jopo del girasol (*Orobanche cumona*)

Las hojas son pequeñas, con aspecto de escamas, amarillas y faltas de clorofila. Las flores son amarillas o amarillo moradas hasta morado oscuro. En la germinación las semillas emiten un filamento fino, cuya extremidad se pone en contacto con las raíces del girasol, engrosándose, y tomando la forma de un bulbo con una superficie provista de una serie de prominencias.

La enfermedad se transmite de un año a otro por semillas, que pueden resistir durante el invierno, en el suelo, o en mezcla con la semilla de girasol, en almacenes (Guerrero et al., 1977).

Medidas preventivas y de control

Limpia la maquinaria, rotación de cultivos, Usar medidas de control en los campos cercanos para evitar el desarrollo del área infectada (resistencia genética, control herbicida o ambos (Syngenta, 2014).

1.13 Micotoxinas

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos filamentosos cuya ingestión, inhalación o absorción cutánea puede llegar a producir diferentes enfermedades, o incluso a causar la muerte de quien las consume.

Muchos hongos producen compuestos biológicamente activos, numerosos de ellos tóxicos para las plantas y animales, incluidos los seres humanos.

Cuando en un sustrato ya sea un cereal, una fruta o un alimento se desarrolla un hongo, existe el riesgo de que haya una contaminación por micotoxinas. Si el alimento contaminado por micotoxinas es ingerido, puede desencadenar una micotoxicosis, es decir una intoxicación que puede afectar a diferentes órganos como el hígado, riñones o el cerebro y puede producir hasta la muerte (FAO, 2003).

1.14 Principales hongos productores de micotoxinas

➤ Género *Aspergillus*

Desde el año 1960 se han identificado numerosas micotoxinas producidas por especies del género *Aspergillus*, que pueden contaminar alimentos (Figura 30), como aflatoxinas (AFs), la ocratoxina A (OTA), entre otras. A continuación, se presenta las especies de *Aspergillus* y las micotoxinas que pueden producir (Cuadro 6).



Figura 30. Diferentes especies del género *Aspergillus* aislados de grano de girasol en medio de cultivo PDA.

Cuadro 6. Especies principales de *Aspergillus* y micotoxinas producidas

Especie	Micotoxina
<i>A. carbonarius</i>	Ocratoxina A (OTA)
<i>A. clavatus</i>	Patulina
<i>A. flavus</i>	Aflatoxinas, Esterigmatocistina
<i>A. fumigatus</i>	Gliotoxina Verrucologeno
<i>A. nindulans</i>	Esterigmatocina
<i>A. niger</i>	Malformina
<i>A. nomius</i>	Aflatoxinas B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂
<i>A. ochraceus</i>	OTA, Dextruxina Ácido penicílico
<i>A. parasiticus</i>	Aflatoxinas B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂
<i>A. terreus</i>	Citrinina Citroviridina
<i>A. ustus</i>	Austamida, austidiol, austidinas y austocistinas
<i>A. versicolor</i>	Ácido ciclopiazónico.

Fuente. Pitt y Hocking, 2009, Ramos 2011 (Elaboración propia, 2017)

En el caso de las oleaginosas es común la especie *Aspergillus flavus*, productora de AFs y esterigmatocistina.

1.15 El descubrimiento de las aflatoxinas

Fue en el año de 1960 que se puso atención frente a la presencia de los hongos filamentosos en los alimentos debido a la muerte de 100,000 crías de pavo en Inglaterra seguida por la descripción de casos similares en otras partes del mundo, como Australia, Hungría, Uganda o Kenia, afectando también a otros tipos de aves, como las crías de patos y de faisán. Durante el inicio de la investigación de este brote, por entonces desconocido, se le denominó “Enfermedad X del pavo” (Blount, 1961).

En un tiempo relativamente corto se pudo determinar que la causa de esto había sido el consumo de pienso de cacahuete que estaba infectado por agentes hepatotóxicos que se extraían fácilmente con cloroformo y emitían fluorescencia al ser sometidos a radiación ultravioleta. Del mismo modo se logró también determinar la presencia de la especie del hongo *Aspergillus flavus* en las muestras contaminadas, denominándole a estos compuestos tóxicos, aflatoxinas (A de *Aspergillus*, fla de *flavus* y toxin de toxina) (Ramos, 2011).

1.15.1 Aflatoxinas (AFs)

Las aflatoxinas (AFs) son producidas por cepas de *Aspergillus flavus*, y *A. parasiticus* mayoritariamente y en menor frecuencia por *A. bombycis*, *A. ochraceoroseus*, *A. nomius* y *A. pseudotamarii* (Moreno, 1988; Goto et al., 1996; Klich, 2002 y Paterson y Lima, 2010).

Las Afs más importantes se denominan B₁, B₂ G₁ y G₂, denominación basada en su fluorescencia bajo luz UV y su movilidad relativa en cromatografía en capa fina, correspondiendo el color azul (del inglés blue, azul, para las designadas B) o verde (del inglés green, verde, para las designadas G), respectivamente, al ser determinadas en placas de cromatografía de capa fina al color fluorescente desarrollado al ser vistas con luz UV.

La aflatoxina B₁ (AFB₁) es el más potente carcinógeno natural conocido y es generalmente la AF más importante producida por cepas toxígenas. Ha sido clasificada dentro del grupo 1 por la Agencia Internacional para la investigación en cáncer (IARC, 1993). No obstante, han sido descritas más de una docena de otras AFs, como la AFM₁, AFP₁, AFQ₁, AFB_{2a} y AFG_{2a} especialmente como productos de biotransformación de los principales metabolitos en mamíferos (Benett y Klich, 2003; Ramos, 2011), en el caso de las llamadas aflatoxinas M (AFM) (del inglés milk, leche), es un metabolito presente en la leche debido a que son excretadas por las hembras de los mamíferos. Por lo cual es importante el control sanitario de animales productores de carne y leche (Ramos, 2011).

En condiciones adecuadas contaminan una larga lista de productos básicos como cereales, higos, semillas oleaginosas, nueces, tabaco, etc. (Pitt, 2000; Ramos, 2011).

En animales de granja, las Afs producen una disminución del crecimiento de la eficiencia alimentaria, disminuyen la respuesta inmunológica y eventualmente pueden llegar a causar la muerte (Gallego, 2005).

Las Afs son sintetizadas con rangos de temperatura que van de 12 a los 40 °C; en un rango de pH de 3.5 a 8.0, siendo el pH óptimo de 5.5-6.0 y en una actividad de agua que va de 0.82 a 0.99 (Ramos 2011).

Desde el descubrimiento de las AFs en muchos países de América del Sur, la legislación aplicable a los alimentos para consumo animal (materias primas y piensos), se reduce a limitar la presencia de AFs en estos productos. La mayoría de estas normas establece que las materias primas que se utilizan directamente, o indirectamente como ingredientes, no han de exceder un máximo permitido de 50 µg/kg. Algunos países siguen la normativa de MERCOSUR, mientras que otros añaden disposiciones adicionales, como en el caso de Uruguay, donde la normativa es más estricta con un límite de 3 µg/kg para alimentos industrializados destinados a niños de corta edad (FAO, 2004).

1.15.2 Legislación existente para aflatoxinas en alimentos destinados para consumo animal

La Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los EE. UU, establece límites permitidos de las AFs de 20 µg/kg en alimentos destinados para la alimentación de animales jóvenes o vacas lecheras, 100 µg/kg en el alimento destinado en alimento vacuno, cerdos o pollos maduros, 200 µg/kg en alimentos terminados para cerdos, y 300 µg/kg en alimentos destinados al engorde vacuno (FDA, 2004).

En la Unión Europea (U.E), mediante la directiva 2003/100 de 31 de octubre de 2003 (E.U, 2003), estableció el límite permitido de AFB₁ en piensos entre 5 y 20 µg/kg, dependiendo del producto, y para AFB₁ y AFB₂ de 5 a 60 µg/kg).

En el uso de las tortas de semillas oleaginosas como fuente de proteínas para diferentes especies animales, pueden incidir el desarrollo de hongos como *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, que produce las micotoxinas AFs (causantes de cáncer) y *A. fumigatus* que produce las micotoxinas llamadas gliotoxina verrucolígena y fumitremorgina A y B (Klich 2002; Ramos 2011).

1.15.3 Legislación de aflatoxinas en alimentos destinados para consumo humano

Según los límites máximos admisibles de aflatoxina B₁ (AFB₁) y aflatoxinas totales (AFs: AFB₁ +AB₂+AG₁+AG₂) en la alimentación humana para cacahuates y semillas oleaginosas en la Unión Europea (U.E, 2010b) son; AFB₁ 8 µg/kg y AFs 15 µg/kg (Reglamento (EU) No 165/2010).

En México y Estados Unidos se tiene un nivel de tolerancia más alto para Afs totales de 20 µg/kg en todos los alimentos (NOM-247-SSA1-2008).

1.16 Prevención y control de las aflatoxinas

Entre los diversos factores que influyen en la producción de aflatoxinas se pueden mencionar: la susceptibilidad del cultivo a las infecciones fúngicas, la composición del sustrato fúngico, el clima, el contenido de humedad y el daño físico de las semillas producido por plagas de insectos. Las estrategias de control están dirigidas

a influir sobre estos factores a través de la gestión de prácticas agrícolas que disminuyan la producción de Afs antes y después de la cosecha.

Los métodos de destoxificación se dividen convencionalmente en físicos, químicos, fisicoquímicos y biológicos, aunque algunos utilizan combinaciones de los diferentes principios de acción. Un buen método de descontaminación o destoxificación debe destruir, remover o inactivar las aflatoxinas, no dejar ningún residuo tóxico o cancerígeno en el producto final, destruir las esporas fúngicas y los restos del micelio que puedan volver a contaminar el alimento, preservar el valor nutritivo y las características organolépticas del producto inicial (Bhat y Vasanthi, 1999).

Un proceso de destoxificación se considera efectivo cuando cumple los siguientes requisitos; ser aceptado por las agencias regulatorias, ser económico, aplicable a gran escala y ser capaz de reducir el riesgo de exposición a un alimento contaminado con más de una toxina fúngica (Ramos, 2011).

- **Métodos físicos**

Estos métodos incluyen: selección de granos, extracción con solventes, adsorción, inactivación por calor e irradiación (Martínez et al., 2013).

El método de selección de granos consiste en la separación mecánica de los granos dañados, de menor tamaño, decolorados y/o con infección fúngica visible, por medio de tamices, manualmente, lo cual permite limpiar el grano (Ramos, 2011).

La inactivación térmica es otra buena alternativa, sin embargo, las Afs tienen altas temperaturas de descomposición que van desde 237°C a 306°C. Se ha intentado usar calor para inactivar las aflatoxinas en alimentos contaminados, pero esto puede tener repercusiones en las cualidades organolépticas y nutricionales en éstos. Es importante tener en cuenta en estos tratamientos, no sólo la temperatura, sino el tiempo de aplicación a la cual van a ser sometidos, ya que conlleva a una mayor efectividad en el proceso de descontaminación (Martínez et al., 2013).

Inactivación de aflatoxinas por irradiación

Diversos tipos de irradiación se han investigado para destoxificar los granos, entre ellas los rayos X, los rayos gamma y la radiación ultravioleta visible (UV) (López-García y Park, 1998). Sin embargo, no consiguen destruir las micotoxinas y su mutagenicidad. Las Afs son sensibles a los rayos UV. AFB₁ absorbe luz UV a 222, 265 y 362 nm, lo cual puede llevar a la formación de más de 12 productos de fotodegradación que son menos tóxicos. Hay ejemplos de alimentos tratados con este método como aceite de cacahuete, leche e higos secos (Martínez et al., 2013).

- **Métodos químicos**

La detoxificación de productos contaminados por inactivación a través de reacciones químicas, alta presión o extracción, usando un solvente orgánico o una combinación de éstos, ha sido utilizada para el control de las Afs desde 1960 (León, 2013).

Amoniolisis

La utilización de amoníaco para la descontaminación de productos agrícolas contaminados por aflatoxinas ha demostrado ser muy eficiente, sin embargo, su posterior utilización como alimento humano o animal es inadecuada debido a las alteraciones físico-químicas generadas (León, 2013). Actualmente es el recurso económicamente más viable para la descontaminación. El amoníaco en forma gaseosa se añade a cultivos en un área cerrada y permite impregnar durante 1 a 2 semanas. En un estudio sobre maíz contaminado artificialmente, los procedimientos de amonificación destruyeron 90% de Afs (Martínez et al., 2013).

Ozonólisis

El ozono ha sido usado por décadas para esterilizar y preservar alimentos. La Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) ha establecido que el empleo de ozono es una metodología segura. Para ello, se dispone de una cámara donde se coloca el producto a tratar, el cual está provisto de un distribuidor vertical del gas ozono, de tal manera que se asegure una distribución homogénea sobre el

producto. La reacción denominada ozonólisis genera nuevas moléculas pequeñas, aunque algunos de los productos obtenidos pueden ser tóxicos (León, 2013).

Métodos quimioprotectivos

Se colocan como aditivos a la dieta de los animales, previenen la intoxicación mediante la adsorción de las toxinas.

Se utiliza el butilhidroxitolueno (BHT), protege contra la toxicidad de la aflatoxina B₁ (AFB₁), en pavos.

Se considera una estrategia prometedora para contrarrestar el problema, en virtud de su escasa interferencia con el proceso de producción de los alimentos (Ramos, 2011).

- **Método de destoxificación**

Es el uso de solventes. Una de las características físico-químicas más destacadas de las micotoxinas es su capacidad de ser solubles en solventes orgánicos. Así, combinaciones de solventes tales como hexano/acetona-agua o isopropanol-agua entre otros, han demostrado arrastrar las micotoxinas (Borrell y Gimeno, 2003).

- **Uso de agentes químicos inertes**

Son sustancias capaces de adsorber las moléculas de micotoxinas en su estructura.

Hay que destacar 3 grupos: carbón activo, polímeros de polivinilpirrolidona, arcillas y silicatos sintéticos (Borrell y Gimeno, 2003).

Carbón activado

El carbón activado corresponde a una estructura de carbono con una gran superficie externa, tanto fuera como en el interior de las moléculas. No existen prácticamente referencias respecto a su utilización como adsorbente de micotoxinas, pero en cambio es un producto muy empleado en la fijación de toxinas entéricas (Borrell y Gimeno, 2003).

Polímeros de pirrolidona

El mecanismo de acción de la pirrolidona se debe tanto al efecto de adsorción física como al establecimiento de puentes de hidrógeno y nitrógeno en su estructura (Borrell y Gimeno, 2003).

Aluminosilicatos

Son de origen natural o sintético, constituyen el grupo de los absorbentes más utilizados para la captación de AFs. El producto que se utiliza es el NovasilTH para AFs. A diferencia de otros métodos, no crean problemas de residuos, no destruyen las vitaminas y proteínas, no crean metabolitos tóxicos y no tienen un precio demasiado elevado (Borrell y Gimeno, 2003).

- **Métodos biológicos**

Se han realizado estudios y pruebas con microorganismos como bacterias, hongos filamentosos y levaduras que biotransforman las micotoxinas en productos no tóxicos o las degradan en determinadas condiciones, sin embargo, estos sistemas aún están en estudio; entre los microorganismos utilizados destacan *Saccharomyces cerevisiae*, *Flavobacterium* y *Neurospora sitophila* (Muñoz, 2008).

Pitt y Hocking (2006) han desarrollado técnicas que permiten disminuir la producción de Afs en alimentos, usando exclusión competitiva o inhibición competitiva. Para ello se contamina el suelo o los granos con hongos como *A. flavus* o *A. parasiticus* no toxígenos. El proceso de inhibición se logra por que los microorganismos no toxígenos inoculados se desarrollan mejor sobre el sustrato, reduciendo el desarrollo de los hongos micotoxígenos (León, 2013).

- **Género *Penicillium***

La importancia de este hongo en la alimentación humana y animal se debe a que, además de causar deterioro, producen micotoxinas. Entre las más importantes se encuentran la patulina (PAT), citrinina (CIT) y roquefortina (Carrillo, 2003).

Cuadro 7. Especies principales de *Penicillium* y micotoxinas producidas.

Especie	Micotoxina
<i>P. allii</i>	Roquefortina.
<i>P. aurantiogriseum</i>	Roquefortina, verrucosidina.
<i>P. brevicompactum</i>	Roquefortina, ácido micofenólico.
<i>P. camemberti</i>	Ácido ciclopiazónico.
<i>P. carneum</i>	Patulina, roquefortina, penitrem, ácido penicílico.
<i>P. commune</i>	Ácido ciclopiazónico.
<i>P. crustosum</i>	Penitren, roquefortina.
<i>P. digitatum</i>	Triptoquivalinas
<i>P. expansum</i>	Patulina
<i>P. griseofulvum</i>	Ácido ciclopiazónico, griseofulvina, PAT, roquefortina.
<i>P. italicum</i>	Deoxibrevianamida E
<i>P. paneum</i>	Patulina, roquefortina.
<i>P. roqueforti</i>	Roquefortina, toxina PR
<i>P. viridicatum</i>	Ácido penicílico, viridamina.
<i>P. verrucosum</i>	Citrinina, ocratoxina A, verrucina.

Fuente. Pitt y Hocking, 2009 (Elaboración propia, 2017).

- **Género *Alternaria***

Especies de este género son muy comunes en cereales, se le considera toxígeno, siendo las más estudiadas el ácido tenuazónico, alternariol y la altertoxina producidas por *Alternaria alternata* (Pavón et al., 2012).

CAPÍTULO 2. Materiales y Métodos

2.1 Material biológico

Para este trabajo se utilizaron 24 muestras de grano de girasol (*Helianthus annuus*) envasado y a granel, procedentes del área metropolitana de la Ciudad de México. De las cuales 12 son empleadas como alimento para consumo humano y las otras 12 para consumo animal, determinando su calidad sanitaria y aflatoxinas totales; agrupándolas de la siguiente manera como se muestra en los Cuadros 8 y 9.

Cuadro 8. Características de las muestras evaluadas para consumo humano (envasados y a granel)

Muestra	Proceso	Procedencia
Envasados		
M1	Natural tostado	Naucalpan
M2	Enchilado	Naucalpan
M3	Acaramelada (con miel)	Naucalpan
M4	Natural	Atizapán
M5	Acaramelada (con miel)	Cuautitlán Izcalli
M6	Salado	Cuautitlán Izcalli
A granel		
M1	Salado	Cuautitlán Izcalli
M2	Acaramelada (con miel)	Cuautitlán Izcalli
M3	Acaramelada (con miel)	Cuautitlán Izcalli
M4	Salado	Cuautitlán Izcalli
M5	Enchilado	Cuautitlán Izcalli
M6	Natural	Cuautitlán Izcalli

Muestras de granos de girasol recolectadas de diferentes centros comerciales dentro de la misma zona con la misma preparación (**Elaboración propia, 2017**).

Cuadro 9. Muestras para consumo animal (envasadas y a granel)

Muestra	Procedencia
Envasados	
M1	Cuautitlán Izcalli
M2	Cuautitlán Izcalli
M3	Cuautitlán Izcalli
M4	Cuautitlán Izcalli
M5	Cuautitlán Izcalli
M6	Perinorte
A granel	
M1	Cuautitlán Izcalli
M2	Tlalnepantla
M3	Cuautitlán Izcalli
M4	Cuautitlán Izcalli
M5	Cuautitlán Izcalli
M6	Cuautitlán Izcalli

Muestras de granos de girasol recolectadas de diferentes centros comerciales dentro de la misma zona **(Elaboración propia, 2017)**.

2.2 Determinación de la microbiota

Para determinar la microbiota presente en las muestras de girasol para consumo humano se utilizaron 300 granos envasados y 300 granos a granel; de los cuales 150 fueron desinfectados superficialmente con hipoclorito de sodio al 2% durante un minuto, determinando la microbiota endógena, procediendo enseguida al secado del mismo en toallas de papel previamente esterilizadas, y 150 sin desinfectar para determinar la microbiota exógena.

Para la identificación de los hongos presentes en grano de girasol para consumo animal se utilizaron 200 granos envasados y 200 granos a granel; de los cuales 100 de cada muestra fueron desinfectados por el procedimiento ya mencionado y 100 sin desinfectar.

A continuación, se sembraron por el método de placa agar utilizando dos medios de cultivo: papa dextrosa agar (PDA) y malta sal agar (MSA). Se realizaron 5 repeticiones por muestra y en cada una de las cajas de Petri con los medios de cultivo se sembraron 15 granos de girasol para consumo humano y para consumo

animal 10 granos, en función del tamaño del grano, así como para que el trabajo experimental fuera reproducible.

Posteriormente las placas de agar con los granos fueron incubadas a 25°C durante 7 días, después de este período se cuantificaron, aislaron e identificaron los hongos presentes en el grano de girasol a nivel de género, obteniendo cultivos axénicos de cada una de las colonias, siguiendo las claves de Barnett y Hunter (1998), se identificaron en algunos casos a nivel de especie siguiendo otras claves especializadas (Figura 31 y Figura 32), las cuales se describen a continuación.



Figura 31. Siembra de grano de girasol para consumo animal en medio de cultivo PDA y MSA



Figura 32. Siembra de grano de girasol para consumo humano en medio de cultivo PDA y MSA

2.3 Identificación del género *Aspergillus* a nivel de especie

Para la identificación de especies del género *Aspergillus* se utilizaron las claves especializadas de Klich (2002).

Los hongos aislados se sembraron en medios de cultivo: Czapek (Cz), Czapek levadura agar con 20% de sacarosa (CYA20S), extracto de malta agar (MEA) a 25 °C y Czapek levadura agar (CYA) a 25°C y (CYA) 37°C, posteriormente se incubaron por 7 días en obscuridad.

Una vez terminado el periodo de incubación se procedió a la identificación de la especie, considerando sus características macroscópicas como diámetro de la colonia, color, textura, apariencia del micelio, pigmentos solubles, presencia de

esclerocios; así como las características microscópicas, como diámetro y forma de los conidios, conidióforo, vesícula y fiálides, entre otras (Figura 33 y Figura 34).

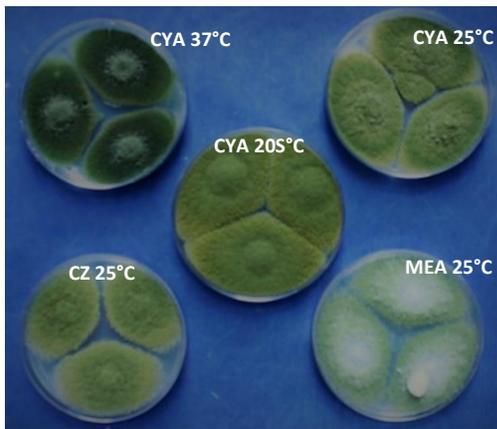


Figura 33. Características macromorfológicas de *Aspergillus flavus* aislado del grano de girasol en diferentes medios de cultivo.



Figura 34. Características micromorfológicas de la cabeza conidial de *Aspergillus flavus* aislado del grano de girasol.

2.4 Identificación del género *Eurotium* a nivel de especie

Para la identificación de especies del género *Eurotium* se utilizaron también las claves especializadas de Klich (2002), utilizando los mismos medios de cultivo, así como la evaluación de las mismas características macroscópicas y microscópicas que para *Aspergillus* ya que *Eurotium* corresponde al estado teleomorfo (sexual) de este hongo. Siendo una de las características particulares para identificarlo el tamaño y la forma de los cleistotecios y ascosporas.

2.5 Identificación del género *Penicillium* a nivel de especie

Para la identificación de la especie del género *Penicillium* se utilizaron tres claves especializadas propuestas por Pitt (1979), Samson y Pitt (1989) y Samson y Frisvad (2004).

Los hongos aislados se sembraron en diferentes medios de cultivo Czapek (Cz) a 25 °C, extracto de malta agar (CYA) a 5°C, 25°C y 37 °C, glicerol nitrato agar (G25N) a 25°C y extracto de levadura sacarosa (YES) a 25°C, una vez que se incubaron por 7 días, a las temperaturas mencionados, se procedió a realizar preparaciones

temporales empleando tinciones de azul de algodón y lactofenol para identificar características microscópicas como: tamaño y forma de los conidios, conidióforos, ramificaciones presentes, métulas, entre otras (Figura 35); así como la observación de sus características macroscópicas como: diámetros de las colonias, color de las colonias, la apariencia del micelio, presencia de exudados, pigmentos solubles, etc (Figura 36).



Figura 35. Conidióforo penicilado de *Penicillium aurantiogriseum* 40x

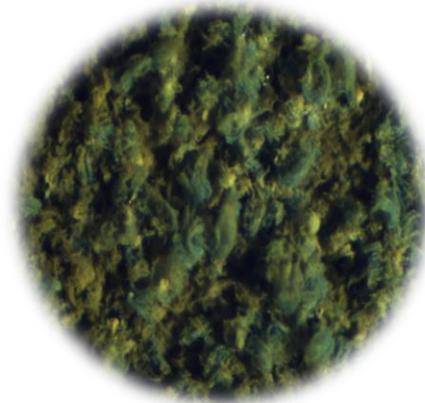


Figura 36. Características macromorfológicas de *Penicillium* sp. aislada de grano de girasol en medio de cultivo PDA a 40x

2.6 Determinación del contenido de aflatoxinas totales (AFs)

Para la determinación de aflatoxinas totales de las 24 muestras se utilizó el método 991.31 aprobado por la AOAC, por cromatografía de inmunoafinidad (1995).

Se utilizaron 50 g de las muestras, depositando cada una de ellas en un vaso de licuadora y adicionándole 5 g de cloruro de sodio (NaCl) y 100 ml de metanol al 80% (en agua), se molió durante un minuto a máxima velocidad. La mezcla obtenida se hizo pasar a través de un embudo con papel filtro aflautado Whatman No 1, el filtrado resultante se colectó en una probeta de 100 ml.

2.6.1 Extracción de aflatoxinas totales

Se tomaron 10 ml del extracto filtrado y se adicionaron en un vaso de precipitados junto con 40 ml de agua destilada, se mezclaron ambos líquidos hasta homogenizarlos perfectamente. Posteriormente, 10 ml de filtrado diluido se pasaron a través de la columna de afinidad Alfa Test-P con anticuerpos monoclonales, a una

velocidad de 1 a 2 gotas por segundo. A continuación, se pasaron 20 ml de agua destilada repartida en dos fracciones iguales, a través de la columna, a una velocidad de 2 gotas por segundo, con la finalidad de realizar lavados de la columna. Se eluyó la columna de afinidad pasando 1 ml de metanol HPLC a través de la columna a una velocidad de 1 a 2 gotas por segundo, esta última fracción se colectó en un vial de borosílicato, al cual se adicionó 1 ml de revelador Alfa Test, el vial se colocó en un Vortex por aproximadamente 5 segundos con la finalidad de homogenizar la mezcla. Por último, se procedió a introducir el vial en el fluorómetro VICAM serie 4, el cual fue calibrado previamente con un vial estándar utilizado para la lectura de concentración de aflatoxinas totales. El vial con el filtrado se mantuvo en el fluorómetro durante un minuto, después de transcurrido este tiempo, se tomó la lectura de la concentración de aflatoxinas totales la cual se reporta en $\mu\text{g}/\text{kg}$.

2.7 Análisis estadístico y diseño experimental

Los hongos aislados se agruparon ecológicamente en hongos de campo, almacén y deterioro avanzado, realizando un análisis de varianza (ANOVA) y una comparación de medias por el método de Tukey, con una $p \leq 0.05$ utilizando el programa estadístico SAS ® 9.3 (2012).

Para la microbiota endógena y exógena del grano de girasol en preparación envasada y a granel se realizó la frecuencia de aislamiento, mediante la fórmula empleada por González et al. (1997).

$\alpha = (\beta/y) * 100$ en donde:

α = Frecuencia de aislamiento expresada en porcentaje.

β = Número de muestras con presencia de género.

y = Número total de muestras.

CAPÍTULO 3. Resultados y Discusión

El girasol es afectado por un sin número de enfermedades causada por hongos, bacterias, nematodos y virus, la mayoría de estos microorganismos se han reportado como asociados al grano de girasol.

Los resultados del presente trabajo muestran que la incidencia de contaminación por hongos y bacterias mesófilas en granos de girasol es significativamente alta en la mayoría de las muestras analizadas destinadas tanto para consumo humano como animal, en sus diferentes presentaciones y procesos de preparación, aislando e identificando nueve diferentes géneros de hongos, de los cuales, tres correspondieron a hongos de campo como *Fusarium*, *Alternaria* y *Cladosporium*. Otros tres pertenecieron a *Aspergillus*, *Eurotium* y *Penicillium*, comunes en el almacenamiento, los cuales fueron identificados a nivel de especie, perteneciendo a *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. candidus*, *A. ochraceus*, *A. tamarii*, *A. wentii*, *A. versicolor*, *Eurotium chevalieri*, *E. herbariorum*, *E. amstelodami*, *Penicillium crustosum*, *P. commune*, *P. expansum*, *P. citrinum*, *P. echinulatum*, *P. auranteogriseum*, *P. aurantiogriseum var aurantiogriseum*, *P. aurantiogriseum var viridicatum*, *P. chrysogenum*; y por último *A. niger*, *Rhizopus*, *Mucor* y *Paecilomyces*, considerados hongos de deterioro avanzado (ver Capítulo 4: Catálogo de Imágenes).

Cabe mencionar que la mayoría de estos hongos filamentosos son productores de toxinas que son un riesgo para la salud humana y animal y por ello es conveniente mencionar las toxinas que son más representativas, en cuanto al grado de toxicidad y efectos que causan en la salud tanto en animales como en seres humanos: *Alternaria* produce el altenueno (ALT), alternariol (AOH), monometil éter de alternariol (AME), ácido tenuazónico (TeA), altertoxinas (ATX) y altenusina (TEN). La exposición a las toxinas de *Alternaria* spp. se ha relacionado con la aparición de una gran variedad de efectos adversos en la salud de personas y animales provocando efectos teratogénicos y fetotóxicos mutagénicos. En los granos de oleaginosas como colza, girasol, sésamo y linaza, también se ha determinado la presencia de AOH y AME. En las de girasol TeA y TEN. Por otra parte, las mismas

toxinas que contaminaban los granos se detectaron en las muestras de aceite de granos de girasol (Pavón et al., 2012).

Dentro de las especies de hongos identificados en este trabajo de investigación, las que son consideradas de mayor importancia a nivel mundial son *A. flavus*, *A. parasiticus* y *A. ochraceus*, por la clase de micotoxinas que producen.

A. flavus produce en su mayoría aflatoxinas B₁ y B₂, mientras que *A. parasiticus* produce las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ (Abarca et al., 2000) que se presentan en numerosos alimentos y piensos, especialmente semillas oleaginosas, nueces comestibles y cereales. En animales, ha sido demostrado que las aflatoxinas han causado varios síndromes: incluido el cáncer de hígado, colon, riñón e hígado, en combinación con el virus de la hepatitis B (Abrunhosa et al., 2012).

A. ochraceus, *A. niger*, *A. wentii*, *P. expansum*, *P. aurantiogriseum*, *P. aurantiogriseum* var. *aurantiogriseum* y *P. chrysogenum* producen ocratoxina A (OA), actualmente está recibiendo una especial atención en todo el mundo por su marcado carácter nefrotóxico (daño renal agudo), también se considera un compuesto posiblemente carcinogénico, aunque no está todavía comprobado en humanos. Ocasiona toxicidad renal (implicada como un agente causal de tumores epiteliales del tracto urinario superior) (Gallo et al., 2015). Esta micotoxina se encuentra frecuentemente en piensos para alimentación animal y en alimentos para humanos como trigo, centeno, café, frutos secos, uvas pasas, vino o en productos derivados de la carne de cerdo. Dada su presencia generalizada en diversos productos, se ha comprobado que los animales y los humanos están expuestos a la ingestión de dicha micotoxina, habiendo sido detectada en sangre y en la leche materna (Abrunhosa et al., 2012). Posee además propiedades teratógenas e inmunotóxicas (Abarca, 2000).

A. versicolor, *A. flavus*, *A. parasiticus* producen esterigmatocistina, que es cancerígena, mutágena, inmunosupresora, hepatotóxica y nefrotóxica. La esterigmatocistina es uno de los precursores de la aflatoxina, considerada como un carcinógeno, pero ligeramente menos tóxica que la aflatoxina, se ha encontrado en cebada y otros granos, café verde y queso duro (Klich, 2009).

A. tamarii es considerado un hongo seguro ya que no produce aflatoxinas, se utiliza en la industria de la fermentación sin embargo produce ácido kójico y ácido ciclopiazónico entre otros metabolitos secundarios (Abrunhosa et al., 2012).

Las fumonisinas (FBs) están divididas en grupos estructurales distintos designados por las series A, B, C y P. Las más importantes desde el punto de vista de seguridad alimentaria son la FB₁ y la FB₂, pues aparecen con frecuencia en productos agrícolas de todo el mundo, principalmente el maíz. Los principales hongos productores de estas FBs son *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* y otras especies del género *Fusarium*, aunque recientemente se ha descubierto que la FB₂ también puede ser producida por el hongo *A. niger* (Abrunhosa, 2012). Su toxicidad provoca alteraciones en el crecimiento. Además, se ha demostrado que la FB₁ promueve el cáncer de esófago y de hígado en humanos. Por existir evidencias comprobadas en animales de laboratorio, pero no en seres humanos, la FB₁ y la FB₂ están clasificadas en el grupo 2B por la IARC. Existe también una comprobada relación entre la exposición a las FBs y la leucoencefalomalacia (muerte de pequeñas zonas de tejido cerebral) en caballos y cerdos, la zearalenona (ZEA) es otra toxina producida por el género *Fusarium*. La ZEA presenta una baja toxicidad de tipo agudo, pero interfiere fuertemente con los receptores de estrógenos y, como consecuencia, afecta el aparato reproductor de los individuos. Entre otros efectos provoca disminución de la fertilidad, pubertad precoz, alteración del peso de las glándulas tiroidea, adrenal y pituitaria, cambios en los niveles de progesterona y estradiol en suero, fibrosis de útero, cáncer de mama, carcinoma de endometrio e hiperplasia de útero (Abrunhosa, 2012).

El género *Penicillium* contiene un gran número de especies toxígenas y la capacidad de producir diferentes micotoxinas es superior a la existente en cualquier otro género fúngico (Benítez, 2003). En el presente estudio las especies que se identificaron y las toxinas que producen son las siguientes; *Penicillium crustosum*: roquefortina C, tremortina (penitrem A); *P. commune*; ácido ciclopiazónico, rugulovasina A y B, fumigaclavina, *P. expansum*: roquefortina C, patulina, citrinina, *P. citrinum*; citrinina, *P. echinulatum*: territrems, *P. aurantiogriseum*; ácido penicílico,

verrucosidina, glicopéptidos nefrotóxicos, *P. aurantiogriseum* var. *viridicatum*: xantomegnina, viomellina, vioxantina, ácido penicílico y *P. chrysogenum*; roquefortina C (Abrunhosa et al., 2012; Bello, 2014 y Serrano, et al. 2015). De las micotoxinas ya mencionadas del género *Penicillium* la más relevante es el ácido ciclopiazónico, está dentro de las neurotoxinas, es considerada moderadamente tóxica. En diversos estudios se han observado lesiones en el tracto intestinal y sintomatología nerviosa en animales, aunque no existe evidencia de toxicidad en humanos, su presencia en alimentos debería ser evitada. El ácido penicílico (AP), tiene actividad antibiótica, aunque también tiene efectos hepatotóxicos y carcinogénicos en animales y humanos. Diversos trabajos documentan, hasta el día de hoy, la presencia de esta micotoxina de forma natural en cereales y leguminosas. La citrinina (CIT) es nefrotóxica para los animales monogástricos. Su ingestión provoca diarrea y pérdida de peso debida a una degeneración renal. La CIT se ha identificado en cereales y granos oleaginosos, utilizados frecuentemente como materias primas en la elaboración de piensos. En productos elaborados, esta micotoxina no suele detectarse ya que se degrada fácilmente con elevadas temperaturas, dando lugar a metabolitos mucho menos tóxicos. Parte de la importancia de esta micotoxina es su presencia junto con la ocratoxina A (OA), en cereales, principalmente trigo y cebada. La combinación de la OA y CIT presentan cierto sinergismo, observándose cambios patológicos en riñón y carcinogénesis. La patulina no parece tener efectos crónicos en el hombre, pero su importancia radica en la elevada frecuencia y cantidad con que se detecta en zumos y otros productos derivados de manzana. Su presencia es mucho más frecuente en cereales y frutos secos, en animales provoca lesiones en el sistema nervioso y cierto poder carcinogénico. Los penitremes son micotoxinas termogénicas (neurotóxicas), que provocan temblores en animales de laboratorio. Existen diferentes penitremes; penitrem A, penitrem B y penitrem C. el penitrem más tóxico es el A, la principal especie productora de esta toxina es *P. crustosum*, la presencia de esta especie en el alimento es una señal que representa una alta probabilidad de encontrar esta toxina. La toxicidad de la roquefortina C es baja; en animales de laboratorio obtenida en distintos estudios la sintomatología fue neurotóxica, con convulsiones o parálisis.

La toxina PR presenta una toxicidad aguda manifestando congestión, edema y hemorragia en animales. En vacas se ha descrito un cuadro abortivo (Benítez, 2003). Sin embargo, la formación de micotoxinas en los alimentos está influenciada por la composición del sustrato, temperatura, actividad de agua y pH. Por ello no se puede afirmar que la presencia del hongo sobre los productos implique que la micotoxina sea producida (Rebuffel, 1988).

3.1 Determinación de la microbiota endógena y exógena del grano de girasol envasado para consumo humano

Para la determinación de la microbiota endógena presente en granos de girasol envasado para consumo humano los hongos con mayor frecuencia fueron: *Penicillium* y *Eurotium* pertenecientes a hongos de almacén, presentándose en las muestra 4 con un 35% y 36% respectivamente, seguidos de los hongos *A. flavus* y *Aspergillus candidus*, en cuanto a hongos de campo tuvieron una baja frecuencia de aislamiento observándose los géneros *Fusarium*, *Cladosporium* y *Alternaria*, presentándose en las muestras 1, 3, 5 y 6, también se presentaron hongos de deterioro avanzado como: *Rhizopus* y *A. niger* en las muestras 1, 3, 4 y 6, cabe señalar que se observó una alta presencia de bacterias mesófilas en las muestras M2 (82%), M5 (33%), M1(17%) y M6 (17%), seguida de la M3 (7%), así mismo, la muestra M4 no presentó bacterias mesófilas. La M4 que pertenece al grano de girasol en preparación natural tuvo una mayor presencia de hongos, seguida por las muestras M3, M6, M1, M5 y M2 (Figura 37).

Con ésto se puede decir que las muestras no tuvieron el manejo postcosecha adecuado, ya que los hongos que se presentaron con mayor frecuencia fueron de almacén; además, de que hubo presencia de *Rhizopus* que es un hongo filamentoso considerado de deterioro avanzado, siendo éste cosmopolita de suelo, frutas y verduras en descomposición, considerado un contaminante común, además de ser el agente causal de infecciones oportunistas en los humanos (Tangarife, 2011), especialmente en pacientes inmunocromprometidos por diabetes mellitus descompensada, leucemia o cáncer. Son infecciones graves que pueden causar la muerte; las variedades clínicas más frecuentes son: rinocerebral (enfermedad micótica fulminante), pulmonar, digestiva y cutánea primaria, generalmente se

adquieren por vía respiratoria ya que las esporas de los hongos se encuentran en el ambiente (Méndez, 2017). Otro hongo que se encontró y es considerado hongo de deterioro avanzado es *A. niger*, que es productor de micotoxinas como la ocratoxina A que es tóxica y carcinógena. El órgano que daña es el riñón. Las aflatoxinas que se ha asociado al síndrome de Reye (es un daño cerebral agudo y problemas con la actividad hepática), carcinoma hepatocelular (cáncer de hígado) y carcinoma de colon (Soriano, 2007).

Para la determinación de microbiota exógena en grano de girasol envasado para consumo humano se obtuvo una mayor incidencia de hongos en la M4 que pertenece al grano de girasol natural seguidas por las muestras M3, M5, M1, M6 y M2. Los géneros que se identificaron fueron en su mayoría de almacén observándose *Eurotium* y *Penicillium* en las muestras 3 y 4 con un 53% y 45%, respectivamente, y con menor frecuencia *A. flavus* y *A. candidus*. En cuanto a los hongos de campo se obtuvo una baja frecuencia de aislamiento los cuales correspondieron a los géneros *Cladosporium* y *Fusarium* presentes en las muestras 1 y 5. Para los hongos de deterioro avanzado se identificaron *Rhizopus* con un 30% en la M4 y *Aspergillus niger* que no tuvo una presencia significativa. La presencia de bacterias, en orden de mayor frecuencia, es la muestra M2 (50%) y M3 (50%) que pertenece a grano de girasol enchilado y acaramelada (con miel), seguido de las muestras M5 (5%), M1(1%), M4 (1%), la M6 no presenta bacterias mesófilas (Figura 38).

Como se puede observar en las Figuras 37 y 38, además de la presencia de hongos de campo, de almacén y de deterioro avanzado en la microbiota endógena y exógena se presentó una alta incidencia de bacterias mesófilas que son indicativas de lotes viejos y mal almacenados. Se debe considerar que los hongos de almacén se desarrollan entre temperaturas de 20 a 40 °C y la humedad relativa no debe exceder el 90%. Algunas especies de *Penicillium*, requieren de más humedad que las especies de *Aspergillus*, que son resistentes a condiciones más secas consideradas xerófitas (Rebuffel, 1988).

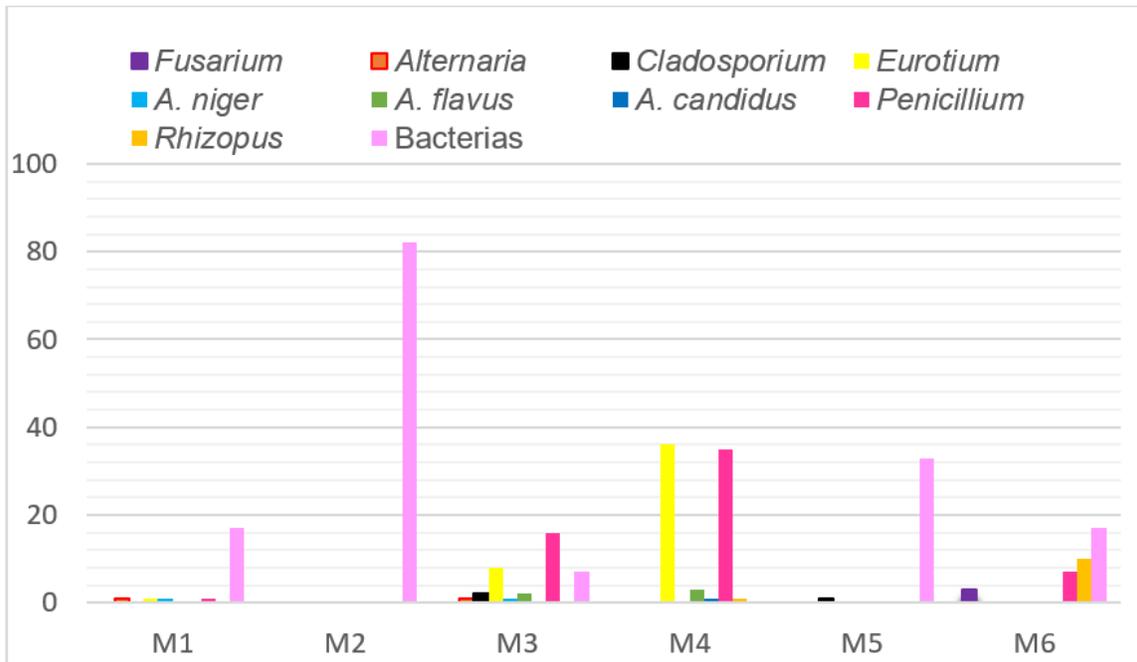


Figura 37. Frecuencia de aislamiento de la microbiota endógena de grano de girasol envasado para consumo humano.

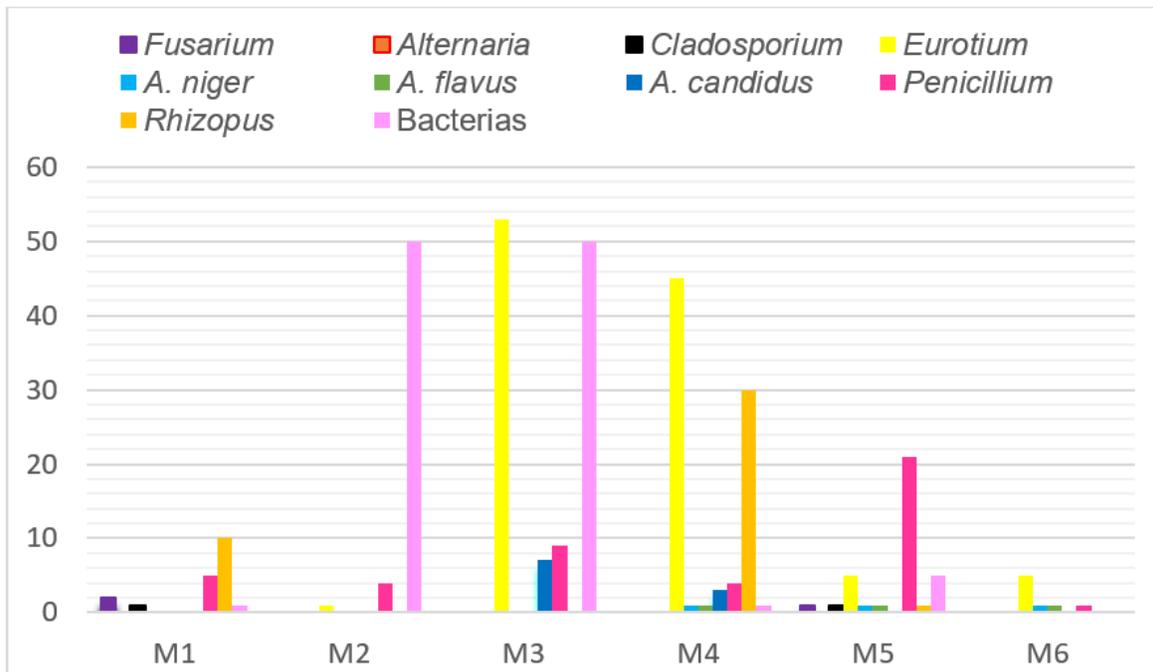


Figura 38. Frecuencia de aislamiento de la microbiota exógena de grano de girasol envasado para consumo humano.

3.2 Determinación de microbiota exógena y endógena del grano de girasol a granel para consumo humano

Para la determinación de la microbiota exógena en las muestras de girasol a granel se encontró que la muestra 5 presentó mayor incidencia de hongos, corresponde al grano de girasol enchilado seguida de las muestras M6, M4, M1, M3 y M2. Los hongos de campo presentaron menor frecuencia de aislamiento identificándose los géneros *Cladosporium*, *Fusarium* y *Alternaria* en las muestras 1, 2, 3 y 4. En cuanto a la frecuencia de aislamiento de los hongos de almacén se identificaron *Aspergillus candidus* con un 45% en la M6, *Eurotium* con un 43% en la M6, *A. flavus* con un 24% en la M5, *Penicillium* con un 22% en la M4, *A. ochraceus* con un 21% en la M5 y en menor cantidad *A. tamari*. Los hongos de deterioro avanzado que se presentaron fueron: *Rhizopus* con una frecuencia del 100% en la M5, *A. niger* con un 30% en la M5 y *Mucor* con un 1% en la M1. Las bacterias mesófilas la muestras que presentaron el mayor número de aislamientos correspondieron a la M5 y M6 con un 50%, pertenecientes a grano de girasol enchilado y natural, seguida por las muestras M3 (23%) y M4 (22%) (Figura 39).

En cuanto a la microbiota endógena en grano de girasol a granel. La muestra número 5, que pertenece a grano de girasol enchilado, presentó una mayor cantidad de aislamientos de hongos, seguida por las muestras M3, M6, M4, M1 y M2, en cuanto a la cantidad de bacterias mesófilas la muestra número 3 (100%) es la que más presentó seguida de las muestras M5 (50%), M6 (19%), M4 (17%), M2 (8%) y M1(7%). Los hongos de campo fueron los que se presentaron en menor cantidad, siendo *Alternaria* y *Cladosporium* los géneros presentes en las muestras M6 (11%) y M5 (1%), en cuanto a los hongos de almacén se obtuvo una mayor frecuencia identificándose *Penicillium* con un 33% en las muestras 3 y 5, *Eurotium* con un 37% en la M6, seguidos en menor cantidad, *Aspergillus flavus*, *A.niger*, *A. candidus*, cabe mencionar que como hongo de deterioro avanzado se presentó *Rhizopus* con un 100% en la M3 (Figura 40).

Como se puede observar en la Figura 39 y Figura 40 se presentaron una alta diversidad de géneros de hongos filamentosos, tanto en la microbiota endógena y exógena del grano de girasol a granel en las muestras 5, 6 y 4 perteneciente a grano

de girasol natural y grano de girasol en preparación salado, ésto debido a que *Aspergillus* y *Penicillium* se desarrollan en medios con contenidos de sal altos, y que el chile, como tal, está asociado a este tipo de hongos, así mismo es de considerar que el girasol natural, como no tienen ningún proceso de elaboración, es más sensible a la invasión de hongos de almacén (Avelar et al, 2011).

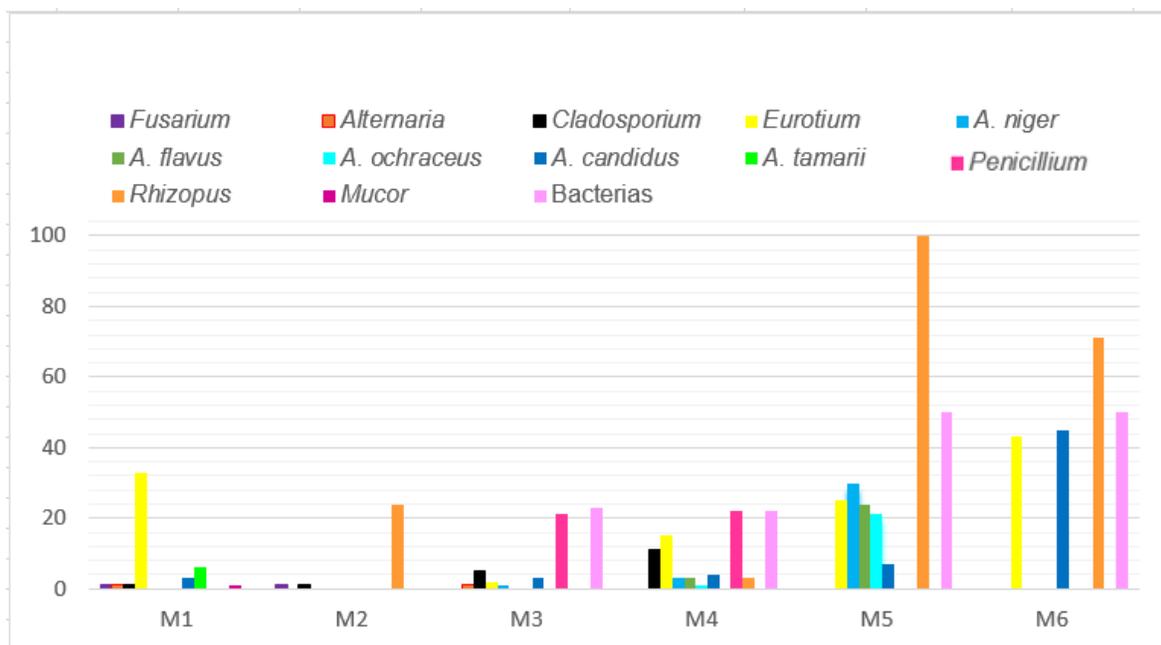


Figura 39. Frecuencia de aislamiento de la microbiota exógena de grano de girasol a granel para consumo humano.

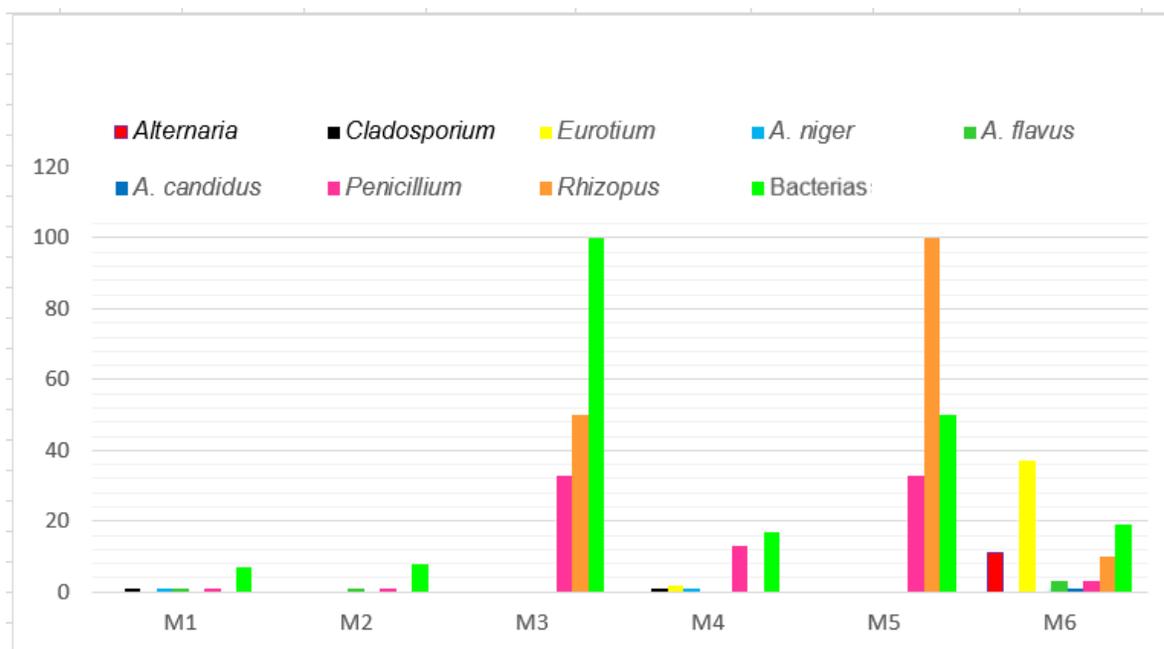


Figura 40. Frecuencia de aislamiento de la microbiota endógena de grano de girasol a granel para consumo humano.

3.3 Determinación de microbiota exógena y endógena del grano de girasol envasado para consumo animal

En la determinación, de la microbiota exógena presente en el grano de girasol para consumo animal envasado se obtuvo que las muestras M6, M3, M1, M2, M5 tuvieron una alta presencia de hongos, a diferencia de la muestra M4 que no presentó ninguno debido probablemente a un correcto almacenamiento. Los hongos de mayor a menor frecuencia en las muestras fueron *Rhizopus* con un 100% en la M6, *Eurotium* y *Penicillium* presentes en las muestras M2 y M5 con un 61% y 14%, respectivamente; en menor presencia *Alternaria*, *Aspergillus flavus*, *A. candidus* y *A. niger*. Para la determinación de bacterias mesófilas la muestra M3 (35%), M4 (29%), M2 (4%), M6 (4%), y M1 (3%) fueron las que mostraron mayor incidencia; en la muestra M5 no hubo presencia de estos microorganismos (Figura 41). Los factores que influyen para el óptimo desarrollo de este tipo hongos son: sustrato, humedad, temperatura adecuada, oxígeno y tiempo para desarrollarse, siendo en parte responsables del deterioro y pérdidas de granos al provocar diversos cambios que afectan su calidad (Rebuffel,1988). Como se puede observar en la Figura 41

también se presentó una alta incidencia de bacterias mesófilas, las cuales se desarrollan cuando hay un mal manejo postcosecha del grano.

En cuanto a la microbiota endógena presente en grano de girasol envasado se puede observar que las muestras con mayor presencia de hongos fueron M6, M3, M1, M2 y M5, la muestra M4 no presenta desarrollo de microorganismos. Los hongos de mayor presencia fueron *Rhizopus* con un 100% en la M2, *Eurotium* y *Penicillium* presentes en la muestra 2 y 1 con un 61% y 15%, respectivamente en menor cantidad *Alternaria*, *A. flavus*, *A. candidus* y *A. niger*. En cuanto a la presencia de bacterias mesófilas las muestras que más presentan fueron la M3 (35%) y M4 (29%), seguidas de la M6 (4%), M2 (4%) y M1 (3%) la muestra M5 no presentó bacterias mesófilas (Figura 42).

Como se puede observar en las Figuras 41 y 42 las muestras presentan una alta diversidad de hongos, los cuales son producidos por un mal manejo postcosecha, ya que las especies que se identificaron se desarrollaron en malas condiciones de almacenamiento y provocan ennegrecimiento total o parcial de los granos, calentamiento como es en el caso de *A. candidus*, olores desagradables que son provocados por *Rhizopus* (causa pudrición) y alteraciones de las características nutritivas. Sin embargo, uno de los problemas más importantes que provocan es la producción de sustancias altamente tóxicas que son producidas por especies de los géneros de *Alternaria*, *Aspergillus* y *Penicillium* (Rebuffel,1988).

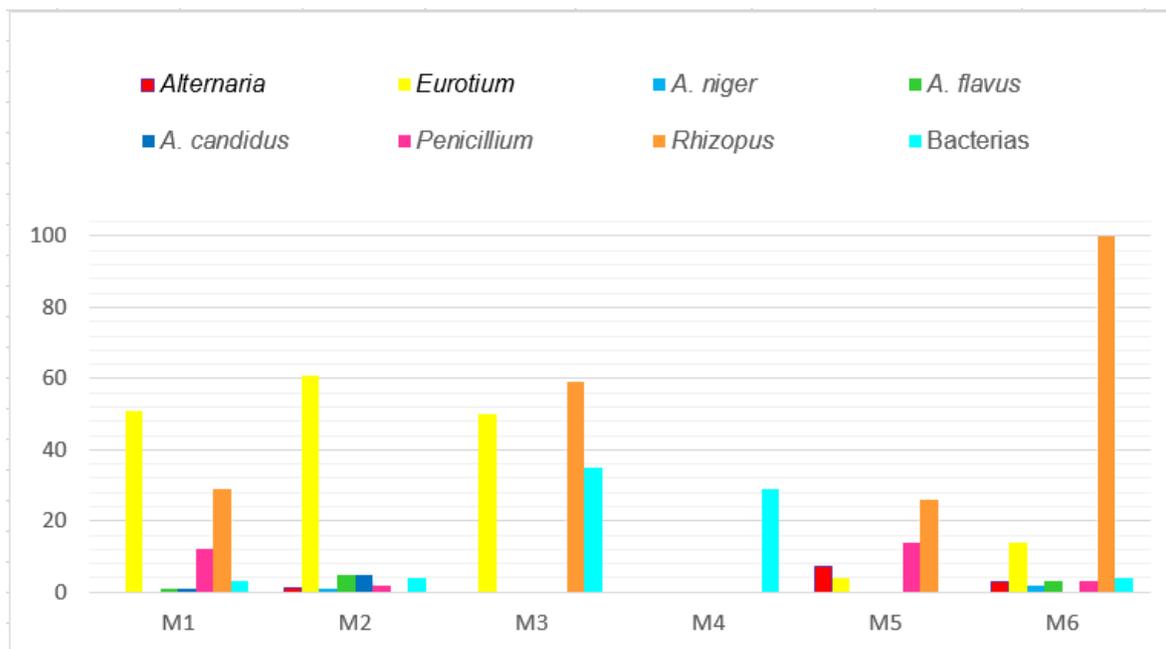


Figura 41. Frecuencia de aislamiento de la microbiota exógena de grano de girasol envasado para consumo animal.

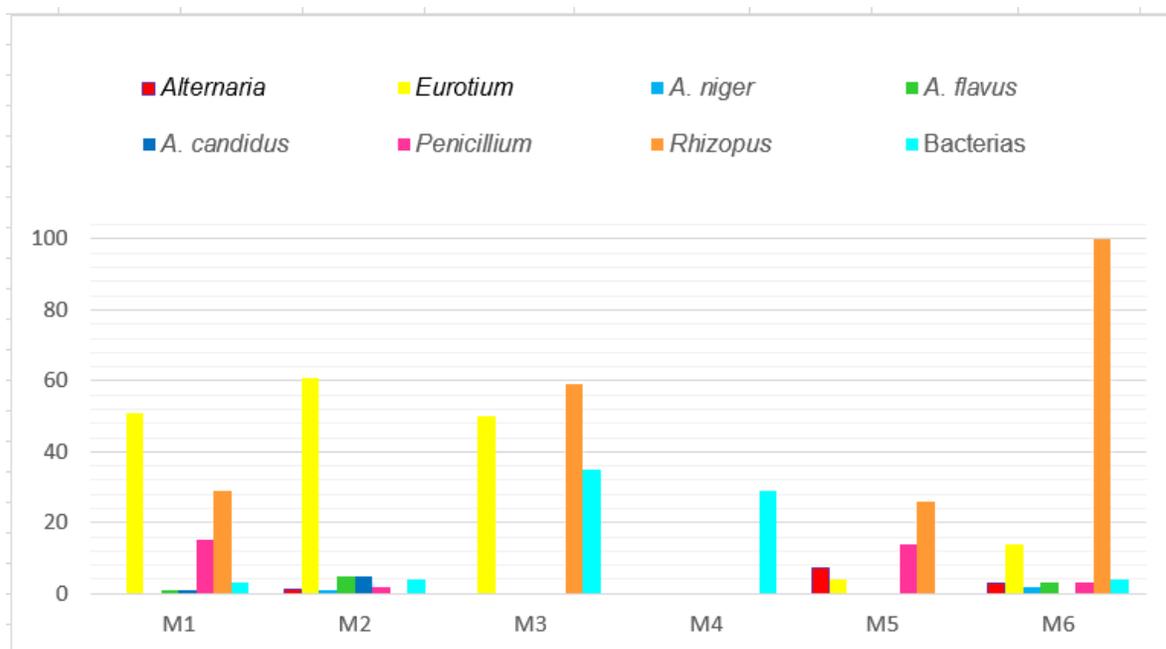


Figura 42. Frecuencia de aislamiento de la microbiota endógena de grano de girasol envasado para consumo animal.

3.4 Determinación de microbiota endógena y exógena de grano de girasol a granel para consumo animal

Para la determinación de microbiota endógena en grano de girasol a granel se encontró que las muestras:

De mayor a menor incidencia de hongos fueron M4, M2, M3, M5, M6 y M1, sin embargo, cabe señalar que todas las muestras presentaron una alta frecuencia de estos, en cuanto a la presencia de bacterias mesófilas solo la muestra M1 (11%) obtuvo resultado positivo.

Los hongos que se presentaron con mayor frecuencia en las muestras en orden de importancia fueron *Rizhopus* con un 100 % en las muestras 3, 5, y 6, cabe mencionar que las muestras 1, 2 y 4 también presentan una alta incidencia, *Eurotium* y *Penicillum* en mayor cantidad en la muestra 2 con un 27% y 13%, respectivamente y en menor cantidad *Aspergillus flavus*, *Alternaria*, *A. candidus*, *A. niger* y *A. ochraceus* (Figura 43), clasificados ecológicamente como hongos de campo, de almacén y de deterioro avanzado, que nos indica que pueden ser potencialmente productores de diversas micotoxinas que pueden afectar la salud de los animales que las consumen.

En cuanto a la determinación de microbiota exógena en grano de girasol para consumo animal a granel las muestras que presentaron alta incidencia de hongos fueron M2, M4, M1, M3, M6 y M5 sobresaliendo *Rhizopus* con una presencia del 100% en las muestras 1, 2, 3 y 4; *Aspergillus flavus* con un 29% en la M4, *Penicillium* y *Eurotium* en la M2 con un 30% y 14%, respectivamente, y en menor proporción *A. wentii*, *Paecilomyces*, *A. versicolor*, *A. ochraceus*, *A. niger*, *Alternaria* y *A. candidus*. En cuanto al contenido de bacterias mesófilas las únicas muestras que presentaron mayor incidencia fueron la M4 (25%) y M1 (4%) (Figura 44).

Como ya se mencionó anteriormente algunos hongos son productores de toxinas causantes de diversos trastornos en la salud animal, en los resultados que se muestran de la microbiota para grano de girasol a granel exógena y endógenamente se identificaron diversas variedades de especies del género *Aspergillus* que son productoras de estas micotoxinas. En los animales, existe toda una serie de factores

que pueden influenciar la toxicidad de las micotoxinas tales como: la especie y raza de los animales que están por ingerir el alimento contaminado; la nutrición y la salud de los animales; la edad y el sexo; las infecciones bacterianas, virales o parasitarias: las condiciones inadecuadas de hábitat de los animales (temperatura, humedad, ventilación, manejo, entre otras), por ejemplo, los pollos que tienen entre 3 a 10 semanas y han ingerido aflatoxina B₁, pueden causar inhibición del desarrollo en concentraciones bajas, lesiones hepáticas graves y muerte con la ingesta de concentraciones altas; en el caso de los cerdos la ingesta de ésta provoca una reducción significativa del crecimiento, y una marcada susceptibilidad a la salmonelosis, en las vacas lecheras disminuye la producción de leche, en los conejos provocan serios problemas de anorexia, apatía y adelgazamiento, además de una marcada atrofia y muertes en conejos recién nacidos, cuyos hígados presentaban necrosis (Gimeno y Martins, 2011).

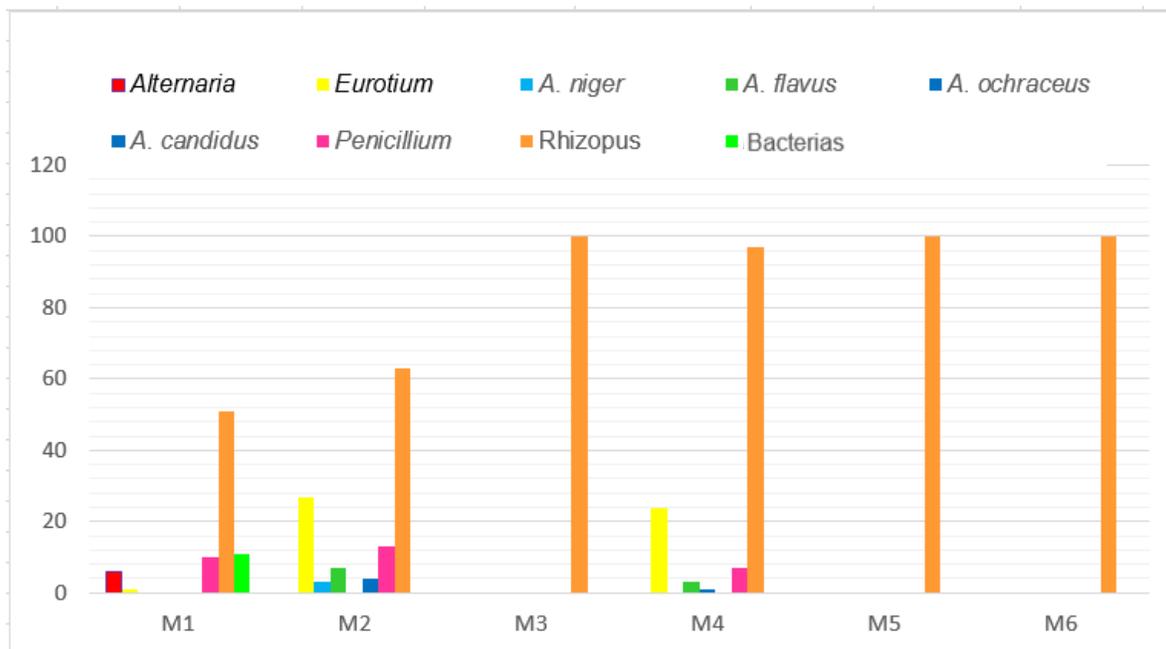


Figura 43. Frecuencia de aislamiento de la microbiota endógena de grano de girasol a granel para consumo animal.

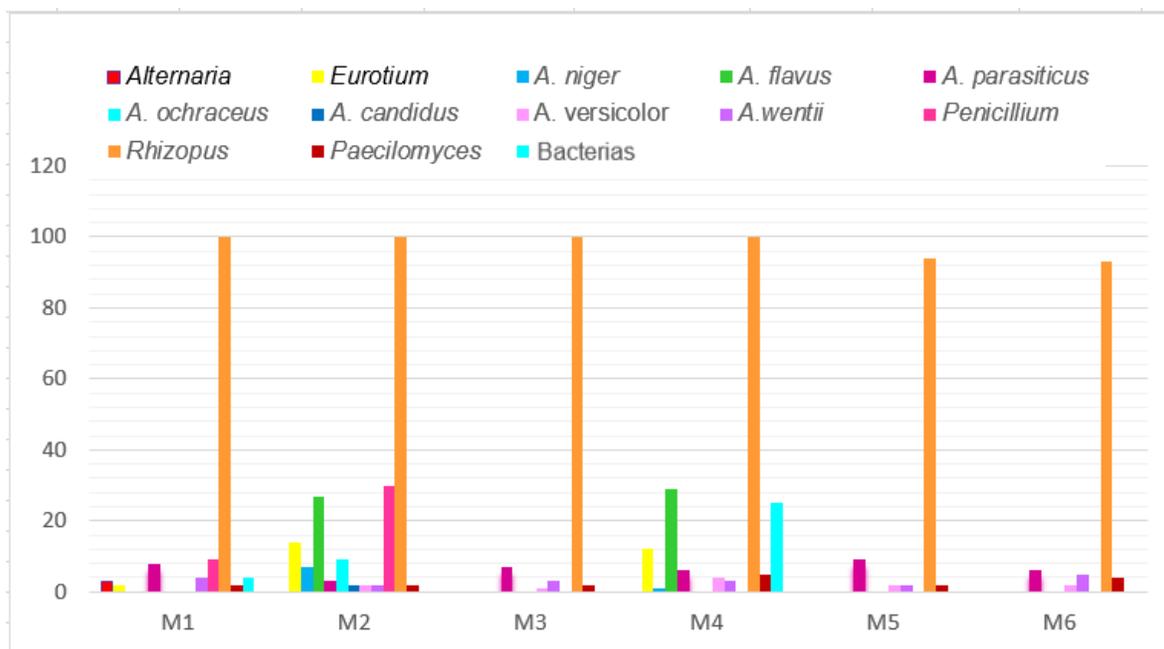


Figura 44. Frecuencia de aislamiento de la microbiota exógena de grano de girasol a granel para consumo animal.

3.5 Microbiota total de grano de girasol para consumo humano envasado y a granel, agrupados ecológicamente en hongos de campo, almacén y deterioro avanzado

De acuerdo al análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos de la microbiota endógena y exógena del grano de girasol envasado destinado para consumo humano, los resultados arrojan que hay una baja incidencia de hongos de campo, los cuales correspondieron a los géneros *Alternaria*, *Cladosporium* y *Fusarium* sin embargo, las muestras 1 y 2 presentaron un mayor porcentaje de éstos (Cuadro 10), en lo que refiere a los hongos de almacén *Eurotium*, *A. flavus*, *A.candius* y *Penicillium* se puede observar que las muestras M4 y M3 presentaron un porcentaje considerablemente alto de 81.4 y 47.6%, respectivamente, seguidas de las muestras M5, M6, M1 y M2. Con relación a los hongos de deterioro avanzado la muestra M4 es la que presentó una diferencia significativa de 16.2% de aislamientos, en comparación con las otras muestras analizadas. En cuanto a las bacterias mesófilas presentes, la muestra M2 es la que presentó una mayor

incidencia de UFC del 66%. La muestra M4 fue la que presentó el mayor porcentaje de hongos de almacén y de deterioro avanzado, correspondiendo al grano de girasol natural tostado para consumo humano.

Como se puede observar en el Cuadro 11 la muestra que presentó un mayor desarrollo en cuanto a la microbiota endógena y exógena del grano de girasol a granel para consumo humano fue M5, que corresponde a grano de girasol en preparación enchilado, predominando los hongos de almacén (54.8%), de deterioro avanzado (100%) y bacterias mesófilas (50%). Los hongos que se presentaron un mayor porcentaje en todas las muestras analizadas fueron los de almacén y de deterioro avanzado, sobresaliendo los géneros *Eurotium*, *Penicillium* y *Rhizopus*. En cuanto a la muestra que presentó un mayor porcentaje de hongos de campo es la M4, seguida de las muestras M6, M3, M1 y M2. Para los hongos de almacén las muestras con mayor incidencia fueron M6 y M5, seguidas de las muestras M4, M3 y M1 y en menor cantidad M2. En cuanto a los hongos de deterioro avanzado se presentó un porcentaje del 100% en la muestra M5 y en la M6 un 40.4%; cabe señalar que todas las muestras contienen una alta frecuencia de éstos. Para el porcentaje de bacterias mesófilas la Muestra M3 obtuvo la mayor incidencia.

CUADRO 10. Porcentaje de la microbiota endógena y exógena del grano de girasol envasado para consumo humano

Muestras	<i>Alternaria</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Fusarium</i>	Hongos de campo	<i>Eurotium</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. candidus</i>	<i>Penicillium</i>	Hongos de almacén	<i>A. niger</i>	<i>Rhizopus</i>	Hongos de deterioro avanzado	Bacterias
M1	0.4a	0.8a	1.0a	2.0a	0.4c	0.0a	0.0a	3.2cd	3.4d	0.4a	5.0b	5.4b	9.0cd
M2	0.0a	0.0a	0.0a	2.0a	0.4c	0.0a	0.0a	2.0d	2.2d	0.0a	0.0c	0.0c	66.0a
M3	0.8a	1.2a	0.0a	1.8a	30.4b	1.0a	3.6a	12.8b	47.6b	0.6a	0.0c	0.6c	28.8b
M4	0.6a	0.0a	0.0a	0.6a	4.4a	1.6a	1.8a	37.6a	81.4a	0.8a	15.4a	16.2a	0.4d
M5	0.0a	0.6a	0.4a	1.0a	2.4c	0.8a	0.0a	10.8cd	13.6c	0.4a	5.0b	0.6c	19.0cb
M6	0.0a	0.0a	1.4a	1.4a	2.4c	0.0a	0.0a	3.6cd	5.8cd	0.4a	0.0c	5.4b	8.4cd

M1 natural tostado; M2 enchilado; M3 acaramelado (con miel); M4 natural; M5 acaramelado (con miel); M6 salado. Medias con la misma letra en una columna son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.5$).

CUADRO 11. Porcentaje de la microbiota endógena y exógena del grano de girasol a granel para consumo humano

Muestras	<i>Alternaria</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Fusarium</i>	Hongos de campo	<i>Eurotium</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. ochraceus</i>	<i>A. candidus</i>	<i>A. tamaritii</i>	<i>Penicillium</i>	Hongos de almacén	<i>A. niger</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i>	Hongos de deterioro avanzado	Bacterias
M1	0.4b	0.6b	0.4a	1.2b	17.0b	0.4b	0.0b	1.4b	3.0a	0.8c	21.8b	0.6b	0.0d	0.4a	1.0d	3.8e
M2	0.0b	0.4b	0.6a	1.0b	0.0c	0.4b	0.0b	0.0b	0.0a	0.8c	1.0c	0.0b	12.0cd	0.0a	12.0cd	4.0e
M3	0.8b	2.2b	0.0a	3.0ab	0.8c	0.0b	0.0b	1.4b	0.0a	26.6a	28.6b	0.4b	25.5cb	0.0a	25.4bc	61.8a
M4	0.0b	8.6a	0.0a	8.6a	8.6bc	1.4b	0.4b	2.0b	1.4a	17.6b	30.8b	3.2b	1.6d	0.0a	4.8d	19.8d
M5	0.0b	0.0b	0.0a	0.0b	12.8b	12.0a	10.6a	3.4b	0.0a	16.4b	54.8a	15.0a	85.0a	0.0a	100a	50b
M6	5.4 a	0.0b	0.0a	5.4ab	39.6a	1.8b	0.0b	23.2a	0.0a	1.8c	66.2a	0.0b	40.4b	0.0a	40.4b	34.6c

M1 salado; M2 acaramelado (con miel); M3 acaramelado (con miel); M4 salado; M5 enchilado; M6 natural. Medias con la misma letra en una columna son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.5$).

3.6 Determinación total de microbiota exógena y endógena de grano de girasol envasado y a granel para consumo animal

De los resultados del análisis de la microbiota endógena y exógena del grano de girasol envasado para consumo animal se observó, en la mayoría de las muestras analizadas que los hongos de almacén y de deterioro avanzado fueron los que presentaron un mayor porcentaje, siendo la M6, la que mostró una alta incidencia de hongos de deterioro avanzado (100%) y M2 (78%), M1(69.6%), M3 (53%), M5 (35%) y M6 (27.6%) de hongos de almacén. En cuanto a la muestra que presentó un menor porcentaje de hongos fue la M4. Con relación a las bacterias mesófilas las muestras M3 y M4 presentaron el mayor porcentaje de UFC (Cuadro 12).

En cuanto a la determinación de la microbiota endógena y exógena del grano de girasol a granel, para consumo animal, la muestra M2 fue la que presentó una mayor incidencia de hongos de almacén (65.0%), de deterioro avanzado (87.8%) y no presentó bacterias mesófilas. Seguida de la M4 con 1.4% de hongos de campo, 35.4% de hongos de almacén, 98.6% de deterioro avanzado y fue la que presentó un mayor número de UFC con un 12.6%. En cuanto al género que se presentó con un mayor número de aislamientos fue *Rhizopus*, que corresponde a hongos de deterioro avanzado (Cuadro 13).

Con respecto a los hongos de almacén, en la M2 se observó una gran diversidad de especies del género *Aspergillus* y su estado teleomorfo, en orden de importancia: *A. flavus* (18.8%), *Eurotium* (14.2 %) *A. ochraceus* (4.6%), *A. candidus* (3.4%), *A. parasiticus* (1.6 %), *A. versicolor* y *A. wentii* (ambos con 1.2%).

CUADRO 12. Porcentaje de la microbiota endógena y exógena del grano de girasol a envasado para consumo animal

Muestras	<i>Alternaria</i>	Hongos de campo	<i>Eurotium</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. candidus</i>	<i>Penicillium</i>	Hongos de almacén	<i>A. niger</i>	<i>Rhizopus</i>	Hongos de deterioro avanzado	Bacterias
M1	0.0b	0.0b	51.0a	1.0a	1.0a	13.6a	69.6ab	0.0a	29.0a	29.0c	3.0b
M2	1.0ab	1.0a	61.0a	5.0a	5.0a	2.0b	78.0a	1.0a	0.0c	1.0c	4.0b
M3	0.0a	0.0b	50.0a	0.0a	0.0a	0.0b	53.0cb	0.0a	59.0b	59.0b	35.0a
M4	0.0a	0.0b	0.0b	0.0a	0.0a	0.0b	3.0e	0.0a	0.0c	0.0c	32.0a
M5	7.0a	7.0a	4.0b	0.0a	0.0a	14.0a	35.0cd	0.0a	26.0c	26.0c	0.0b
M6	3.2ab	3.2ab	12.2b	3.0a	0.0a	3.0b	27.6d	2.0a	98.0a	100.0a	4.0b

M1 grano girasol; M2 grano girasol; M3 grano girasol; M4 grano girasol; M5 grano girasol; M6 grano girasol. Medias con la misma letra en una columna son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.5$).

CUADRO 13. Porcentaje de la microbiota endógena y exógena del grano de girasol a granel para consumo animal

Muestras	<i>Alternaria</i>	Hongos de campo	<i>Eurotium</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. parasiticus</i>	<i>A. ochraceus</i>	<i>A. candidus</i>	<i>A. versicolor</i>	<i>A. wentii</i>	<i>Penicillium</i>	Hongos de almacén	<i>A. niger</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Paecilomyces</i>	Hongos de deterioro avanzado	Bacterias
M1	4.8a	4.8a	1.8b	0.0b	4.2a	0.0b	0.0b	0.0a	2.0a	9.6b	17.2cb	0.0b	75.6b	1.2a	76.6b	6.0b
M2	0.0b	0.0b	14.2a	18.8a	1.6a	4.6a	3.4a	1.2a	1.2a	21.8a	65.0a	5.2 ^a	81.8ab	1.2a	87.8ab	0.0c
M3	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	3.8a	0.0b	0.0b	0.6a	1.6a	0.0b	5.8c	0.0b	100a	1.0a	100 a	0.0c
M4	1.4ab	1.4ab	12.2a	16.2a	3.2a	0.6b	0.0b	2.0a	1.6a	0.6b	35.4b	0.6b	95.8ab	2.6a	98.6ab	12.6a
M5	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	5.0a	0.0b	0.0b	1.0a	1.0a	0.0b	7.0c	0.0b	92.0ab	1.0a	93.0ab	0.0c
M6	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	3.0a	0.0b	0.0b	1.0a	2.6a	0.0b	6.6c	0.0b	95.6ab	2.0a	97.6ab	0.0c

M1 grano girasol; M2 grano girasol; M3 grano girasol; M4 grano girasol; M5 grano girasol; M6 grano girasol. Medias con la misma letra en una columna son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.5$).

Existen pocos trabajos relacionados con el estudio de microbiota asociada al grano de girasol. En la India se realizó un trabajo con respecto a la frecuencia de la micobiota en el grano de girasol durante el almacenamiento, en donde identificaron a nivel especie 15 diferentes tipos de hongos aislados entre ellos: *Aspergillus flavus*, *Phoma oleracea*, *A. niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium italicum*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *Mucor mucedo*, *Fusarium solani*, *Curvularia lunata*, *Cladosporium*, *A. nidulans*, *Penicillium digitatum* y *Alternaria alternata* (Patharkar 2013). En otro estudio realizado por Nahar, et al., (2005) aislaron principalmente hongos predominantes como *Absidia corymbifera*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Bostrychodes*, *Chaetomium*, *C. globosum*, *Emericella nidulans*, *Fusarium pallidoroseum*, *F. solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Penicillium*, *Rhizoctonia solani* y *Rhizopus stolonifer*, muchos de ellos también encontrados e identificados en este trabajo.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede inferir que las muestras no son de reciente cosecha, además, de que no tuvieron las condiciones adecuadas durante su almacenamiento ya que se presenta una alta incidencia principalmente de hongos de almacén, hongos de deterioro avanzado y bacterias mesófilas. La importancia de la presencia de estos microorganismos radica en que en determinadas condiciones favorables para su desarrollo, son capaces de producir biodeterioro y diversos daños en el grano, además, de producir metabolitos secundarios tales como las micotoxinas, asociadas al trastornos en la salud humana y animal como es en el caso de *A. flavus* y *A. parasiticus* que producen AFs (B₁, B₂, G₁, G₂), *A. niger* que produce ocratoxina A, malformina y ácido oxálico, provocando enfermedades como hepatitis tóxica (ictericia), hepatitis B, cáncer de hígado y en casos graves hasta la muerte en humanos y a los animales daños hepáticos y renales. *Penicillium* presenta algunas especies que producen ácido penicílico, viridamina, roquefortina, verrucosidina, nefrotoxinas, entre otros, provocando enfermedades tanto en humanos como animales, principalmente daño renal y debilidad generalizada (Smith et al., 2016; Moreno 1988; y Ramírez y Hernández, 2015).

3.7 Determinación de aflatoxinas totales en grano de girasol para consumo humano

Existen pocas investigaciones en México con relación a aflatoxinas totales presentes en grano de girasol, debido a que este cultivo no se produce de manera significativa y por lo tanto su consumo es limitado; sin embargo, existen estudios realizados en Pakistán, en donde se muestra que la incidencia de contaminación por aflatoxinas en granos de girasol en 24 muestras, mediante el método de cromatografía de capa fina (TLC), 13 mostraron contaminación con aflatoxina B₁ y 5 con aflatoxinas B₁ y B₂. La cantidad de aflatoxinas B₁ y B₂ presentaron niveles de 437 µg/kg, muy por arriba del límite máximo permitido de 20 µg/kg (Dawar y Ghaffar, 1991). La presencia de aflatoxinas es considerablemente alta en comparación a los resultados obtenidos en este trabajo. Como se puede observar en el Cuadro 14, las muestras analizadas para aflatoxinas totales del grano de girasol en presentación a granel para consumo humano resultaron positivas: M3 (8 µg/kg) grano de girasol acaramelado (miel), M1 (2 µg/kg) grano de girasol salado, M2 (1 µg/kg) grano de girasol acaramelado (miel) y M4 (1 µg/kg) grano de girasol con sal.

En el análisis de las muestras de grano de girasol en presentación envasada las muestras que presentaron aflatoxinas totales fueron M5 (2 µg/kg) grano de girasol acaramelado (con miel) y M6 (2 µg/kg) grano de girasol preparado con sal.

Como era de esperarse, las muestras a granel presentaron una mayor concentración de aflatoxinas totales, ya que éstas están mayormente expuestas a factores físico-químicos (humedad relativa y temperatura altas, mal manejo postcosecha, etc) desfavorables que propician el desarrollo de hongos toxígenos y la producción de micotoxinas.

Tanto en la presentación a granel como en la envasada, coincide que las muestras de grano de girasol en preparación acaramelada (miel) con 8.0 µg/kg y saladas con 1.0 µg/kg manifiestan concentración de aflatoxinas totales.

Cuadro 14. Análisis de aflatoxinas totales en grano de girasol para consumo humano a granel y envasado

PRESENTACIÓN	MUESTRAS	AFLATOXINAS (µg/kg)
A GRANEL	M1 salada	2.0
	M2 acaramelada (miel)	1.0
	M3 acaramelada (miel)	8.0
	M4 salada	1.0
	M5 natural	N.D
	M6 enchilada	N.D
ENVASADAS	M1 enchilada	N.D
	M2 natural tostada	N.D
	M3 natural	N.D
	M4 acaramelada	N.D
	M5 salada	2.0
	M6 acaramelada	2.0

N.D. No detectado

3.8 Determinación de aflatoxinas totales en grano de girasol para consumo animal

Cuando se ingieren aflatoxinas en grandes cantidades, éstas pueden causar en los animales toxicidad aguda con resultado de muerte de los individuos (micotoxicosis); y en niveles ligeramente por debajo de dosis letales causan disminución de peso y de la producción de leche y huevos; cuando se exponen a pequeñas concentraciones provocan supresión de la función inmune y disminución de la resistencia a infecciones; y cuando se exponen los animales a bajas concentraciones pero por un periodo prolongado, favorecen la formación de tumores y el desarrollo de enfermedades crónicas en los órganos vitales (Abrunhosa et al., 2012). Es importante mencionar que en la determinación de aflatoxinas totales

en grano de girasol para consumo animal a granel y envasadas, presentaron menor concentración que las muestras destinadas para consumo humano.

Como se puede observar en el Cuadro 15, solo la muestra M5 perteneciente a grano de girasol a granel resultó positiva, presentando trazas de aflatoxinas totales con 1 µg/kg, la cual está dentro de los límites máximos permitidos de 20 a 300 µg/kg según la especie de animal a la cual sea destinado el alimento, de acuerdo a la Food and Drug Administration (FDA, 2001) de los EE. UU.

Cuadro 15. Análisis de aflatoxinas totales en grano de girasol para consumo animal a granel y envasado

	MUESTRAS	AFLATOXINAS (µg/kg)
A GRANEL	M1	N.D
	M2	N.D
	M3	N.D
	M4	N.D
	M5	1.0
	M6	N.D
ENVASADAS	M1	N.D
	M2	N.D
	M3	N.D
	M4	N.D
	M5	N.D
	M6	N.D

N.D. No detectado

Actualmente se conocen cerca de 300 micotoxinas, aunque sólo algunas de ellas se pueden encontrar en los alimentos y en cantidades suficientes para ser consideradas un verdadero riesgo para la seguridad alimentaria. Las más relevantes son las AFs, la ocratoxina A (OTA), la patulina (PAT), las fumonisinas (FBs), la zearalenona (ZEA), los tricotecenos y los alcaloides del ergot. Éstas son producidas por especies que pertenecen a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Claviceps* (Abrunhosa et al., 2012). En este trabajo se pudo determinar que los géneros de hongos que se presentaron en su mayoría fueron *Aspergillus* y *Penicillium*, con una alta diversidad de especies que son potencialmente micotoxígenas, y aunque en la prueba de concentración de aflatoxinas totales de las 24 muestras analizadas tanto para consumo humano como animal, en sus diferentes presentaciones envasadas y a granel, están por debajo del límite máximo permitido por la Norma Oficial Mexicana de 20 µg/kg NOM-188-SSA1-2002 y también para la norma establecida en la Unión Europea, que permite hasta 15 µg/kg, queda una apertura para el análisis de otro tipo de toxinas que puedan ser dañinas para la salud humana y animal, ya que estas pueden ser carcinogénicas, mutagénicas, teratogénicas, citotóxicas y estrogénicas, además que su toxicidad depende en gran medida de las cantidades ingeridas, del tiempo de exposición y de las posibles sinergias que pueden derivarse de la ingestión de diferentes micotoxinas al mismo tiempo (Abrunhosa et al., 2012).

Cabe señalar que el deoxinivalenol (DON) es uno de los tricotecenos más frecuentes encontrado en cebada, maíz, centeno, semillas de girasol y trigo (Abrunhosa et al., 2012).

CAPÍTULO 4. Catálogo de imágenes de hongos comunes en granos de girasol destinados al consumo humano y animal

Los hongos que invaden a los granos oleaginosos como el girasol, son capaces de causar considerables pérdidas anuales, si estos productos no son almacenados correctamente, pueden causar diversos daños, como manchado, debilitar o destruir el embrión, arrugamiento del grano, pérdida de peso, cambios bioquímicos, calentamiento y la producción de diversas micotoxinas potencialmente dañinas para el humano y animales. Considerando la importancia y la poca información que existe sobre los hongos asociados al grano de girasol en México, se elaboró el presente Catálogo, dando cuenta de los géneros y especies de hongos que predominaron en el grano de girasol, su descripción morfológica, daños que causan y si representan un riesgo por ser micotoxígenos.

Este Catálogo comprende un total de 9 géneros y 20 especies, identificadas por su macromorfología y micromorfología, basado en claves especializadas.

GÉNEROS IDENTIFICADOS

➤ *Fusarium*

Síntomas: Este hongo causa la marchitez del cuello y tallo de la planta de girasol.

Descripción: Las especies de este género se conocen comúnmente como “mohos amarillos o rosados”. Pueden presentar dos tipos de conidios, macroconidios en forma de media luna o fusiformes con septos transversales, hialinos; algunas especies forman cadenas de microconidios. Así mismo, dentro del género algunas especies llegan a presentar un esporodoquio, muchas otras no lo presentan. Las células esporógenas (fiálides) son producidas directamente sobre las hifas o sobre un conidióforo corto. Una especie de este género aislada de semilla de girasol es *F. pallidoroseum* (Figura 45).



Figura 45. Macroconidios falcados de *Fusarium* sp.

Importancia: La infección se produce desde el campo, antes o durante la cosecha y en ocasiones durante el almacenamiento, siempre y cuando el grano presente un alto contenido de humedad para poder desarrollarse, algunas especies son toxígenas.

➤ *Alternaria*

Síntomas: En el girasol la especie más común es *A. helianthificiens*, infectando a la planta en cualquier etapa de desarrollo. Se caracteriza por formar manchas de color café o negro rodeadas por un halo clorótico en las hojas; cuando la humedad relativa es alta, el centro de las manchas toma una coloración gris a causa de la esporulación del hongo, en condiciones severas el tallo presenta lesiones longitudinales oscuras de 5 a 15 mm y el capítulo muestra pequeñas manchas café principalmente en la parte posterior, además de causar estrangulamiento. En la semilla produce una toxina que inhibe la germinación de la semilla y el desarrollo de la radícula.

Descripción: Hongo filamentoso, saprófito, caracterizado por presentar una coloración oscura. Las colonias forman micelio septado, son de crecimiento rápido (tres o cuatro días) y macroscópicamente presentan un aspecto vellosa, al principio de color gris, después adquieren tonos negros oliváceos en el centro y reverso y con un borde gris blanquecino que rodea la colonia. Los conidios se desarrollan a partir de un conidióforo simple o ramificado, generalmente en cadenas, ovoides o elipsoidales y frecuentemente en uno de los extremos presentan un pico largo

filiforme, son de pared lisa u ornamentada, de color café oscuro, con septos longitudinales y transversales (Figura 46).

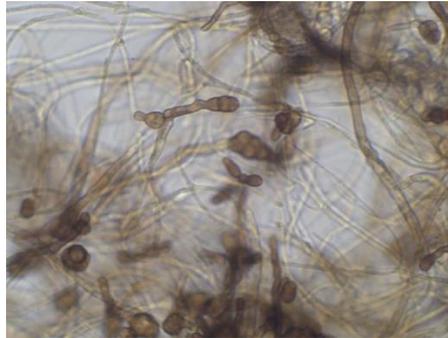


Figura 46. Conidios con septos longitudinales y transversales de *Alternaria* sp.

Importancia: La infección se produce desde el campo, requieren que el grano contenga un nivel de contenido de humedad alto para su desarrollo, algunas especies son toxígenas.

➤ *Cladosporium*

Síntomas: Son hongos saprófitos que se presentan en plantas afectadas por condiciones desfavorables u otras enfermedades, tales como la pudrición de raíz, tizones de la hoja, acame, ataque por áfidos, enfermedades bacterianas o virosas.

Descripción: Macroscópicamente forma colonias aterciopeladas, pulverulentas o vellosas, con pliegues radiales, de color blanco o crema que tienden a oscurecerse en tonos verde oliva y, a veces, gris verdoso o marrones. Microscópicamente presenta hifas finas, septadas, ramificadas, de color hialino a marrón. Las hifas sostienen cadenas ramificadas de conidios unicelulares o bicelulares, limoniformes, elipsoides o cilíndricos, algunos con forma de escudo debido a las cicatrices de unión entre ellos (Figura 47).

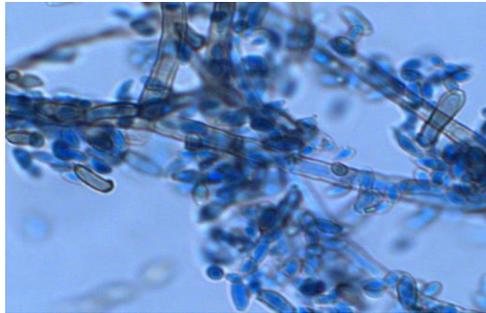


Figura 47. Conidios e hifas de *Cladosporium* sp.

Importancia: Hongos de campo ampliamente distribuidos y se reproducen en tejido vegetal enfermo o muerto, especialmente durante periodos de alta humedad. No se han reportado como toxígenos.

➤ *Aspergillus*

Síntomas: Causa deterioro en grano almacenado, calentamiento, especialmente en granos de girasol con contenidos de humedad en equilibrio con humedades relativas superiores al 65-70%. Algunas especies, además de causar manchado, reducen la germinación, pérdida de peso, son productoras de micotoxinas, como las aflatoxinas y ocratoxinas.

Descripción: La colonia en la semilla por lo general se extiende y es color verde amarillento intenso, café oliva o café. Los conidióforos son hinchados en el ápice formando una vesícula, sobre la que se producen células esporíferas llamadas fiálides, las cuales pueden originarse directamente sobre la vesícula, formando cadenas largas de conidios que en conjunto forman las llamadas cabezuelas conidiales uniseriadas, o en algunas especies, pueden formarse las fiálides a partir de métulas y formar cabezuelas conidiales biseriadas. Los conidióforos pueden presentar paredes gruesas incoloras, lisas o rugosas. Los conidios son esféricos y subsféricos ostensiblemente lisos, ornamentados, a veces ovalados o de forma piriforme al principio, forma que en ocasiones conservan (Figura 48).

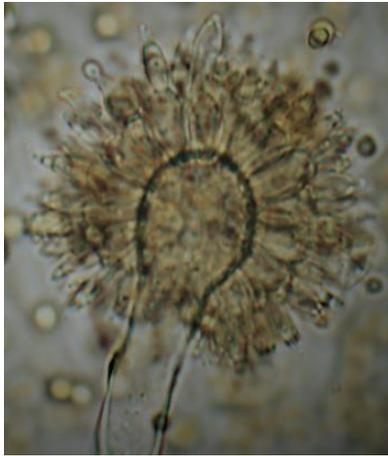


Figura 48. Cabezuela conidial biseriada de *Aspergillus* sp.

Importancia: es un género que presenta diversas especies que se desarrollan durante el almacenamiento debido a su requerimiento de agua bajo para crecer, entre un 65 a 85%, aunque algunas especies como *A. flavus* puede desarrollarse desde el campo, especialmente con periodos de sequía y con ataque de insectos en las plantas. Se han reportado varias especies micotóxicas de este género.

➤ *Eurotium*

Síntoma: producen manchado y muerte del embrión en granos y semillas.

Descripción: Forman colonias de color verde amarillo, con aspecto de fieltro. Presentan cabezuelas conidiales uniseriadas, con fiálides dispuestas radialmente, con conidióforos de pared lisa. Conidios generalmente ornamentados. Se caracterizan por formar cleistotecios de color amarillo (Figura 49).

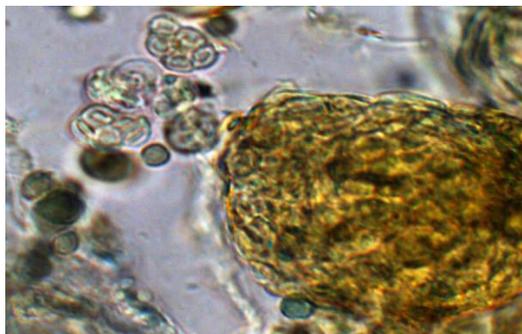


Figura 49. Cleistotecios, ascas y ascosporas de *Eurotium* sp.

Importancia: Son hongos xerófilos comunes en el almacén, pudiendo causar un deterioro considerable si no se controlan; imparten colores y olores desagradables a los granos y disminuyen la germinación de semillas. Algunas especies se han reportado como micotóxicas, aunque éste no ha sido documentado completamente.

➤ *Penicillium*

Síntoma: Este género reduce el poder germinativo de las semillas almacenadas y algunas especies se han reportado como productoras de micotoxinas, como la citrinina producida por *P. citrinum*, *P. expansum* y *P. viridicatum*; la ocratoxina sintetizada por especies de *P. cyclopium* y *P. viridicatum*, entre otras.

Descripción: Las colonias presentan crecimiento rápido, con aspecto filamentoso, velloso, lanoso o de textura algodonosa. Inicialmente las colonias son blancas y luego se convierten en verde azuladas, gris verdosas, gris oliva, amarillentas o rosadas con el tiempo. El reverso de la colonia es pálido o amarillento.

Microscópicamente en la mayoría de las especies tiene las hifas septadas hialinas, el conidióforo con paredes lisas ligeras o moderadamente rugosas o tuberculadas, monoverticilado, biverticilado, triverticilado o tetraverticilado; las ramas pueden ser lisas o rugosas, las métulas espatuladas, vesiculadas o no vesiculadas, las fiálides ampuliforme a acerosas o cilíndricas y los conidios esféricos, subesféricos, elípticos y cilíndricos (Figura 50).

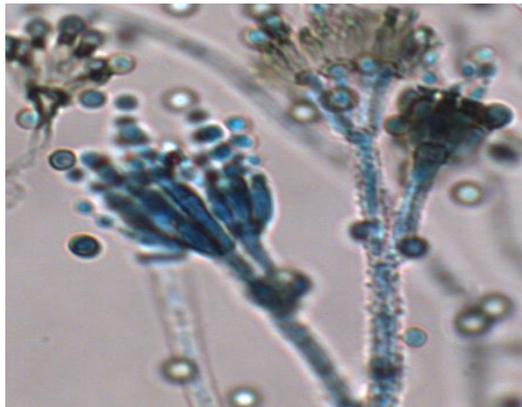


Figura 50. Conidióforo biverticilado de *Penicillium* sp.

Importancia: Es un hongo que generalmente se desarrolla en el almacén pero algunas especies se presentan desde el campo. Requieren para su desarrollo humedades relativas elevadas, entre 85 y 90%. Algunas especies pueden desarrollarse a temperaturas muy bajas, inclusive bajo cero.

➤ *Mucor*

Síntoma: Produce deterioro en el grano almacenado en pésimas condiciones. Puede desarrollarse en atmósferas con bajas concentraciones de oxígeno, no se le considera toxígeno, se le ha implicado en la producción de micosis en animales.

Descripción: Colonias de color blanco al principio y posteriormente gris. Presentan un micelio cenocítico, algodonoso, de crecimiento rápido. Forma esporangióforos, usualmente erectos, no ramificados, con esporangios esféricos terminales, con abundantes aplanosporas, la columela queda expuesta al romperse el esporangio. Se diferencia de *Rhizopus* ya que no presenta rizoides y estolones. Sexualmente forma cigosporangios con cigosporas endógenas (Figura 51).

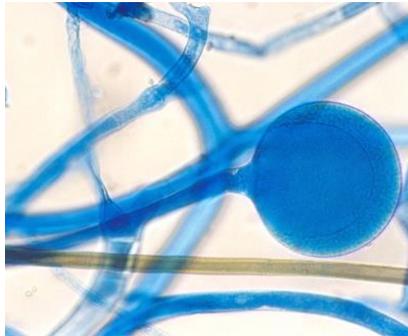


Figura 51. Esporangióforo con esporangio y columela de *Mucor* sp.

Importancia: Es de los mohos más comunes en el suelo, estiércol y vegetales en descomposición. Se considera un hongo de deterioro avanzado que requiere de humedades relativas muy altas de 95-100%

➤ *Rhizopus*

Síntoma: Produce deterioro en el grano almacenado en pésimas condiciones.

Descripción: Es un hongo que se encuentra en el suelo, en toda clase de materia orgánica vegetal en descomposición; en medio de cultivo crece rápidamente, enmascarando el desarrollo de otros hongos de crecimiento más lento. Microscópicamente presenta micelio cenocítico, esporangióforos generalmente individuales, adheridos al sustrato por medio de rizoides y unidos a otros por medio de estolones; esporangios globosos, oscuros, con columela hemiesférica y aplanosporas ovales de color café claro, presentando columela (Figura 52).

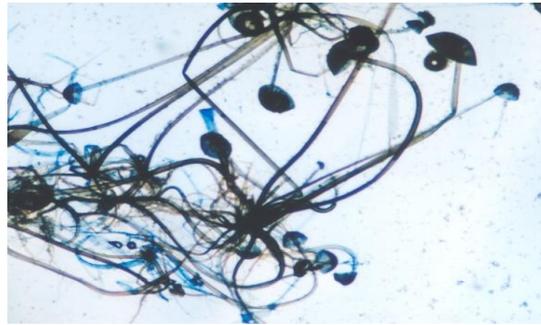


Figura 52. Esporangios en esporangióforos con rizoides de *Rhizopus* sp.

Importancia: Es uno de los mohos más comunes y cosmopolitas, en el girasol produce la pudrición del capítulo. Requiere para su desarrollo, ambientes con humedades relativas altas, de 95-100%, ocasionando pudriciones de granos en el almacenamiento.

➤ *Paecilomyces*

Síntoma: Hongo de deterioro avanzado en grano almacenado en pésimas condiciones, para su desarrollo requiere de humedades superiores al 90%.

Descripción: Es un hongo que se aísla de materia orgánica en avanzado estado de descomposición. Microscópicamente presenta micelio septado, conidióforos bien desarrollados, simples o ramificados, algunas especies no presentan conidióforos; las fiálides pueden crecer directamente de las hifas somáticas, en pares o verticilos o bien individualmente. Presenta conidios unicelulares hialinos o pigmentados, formando cadenas, a veces muy largas (Figura 53).

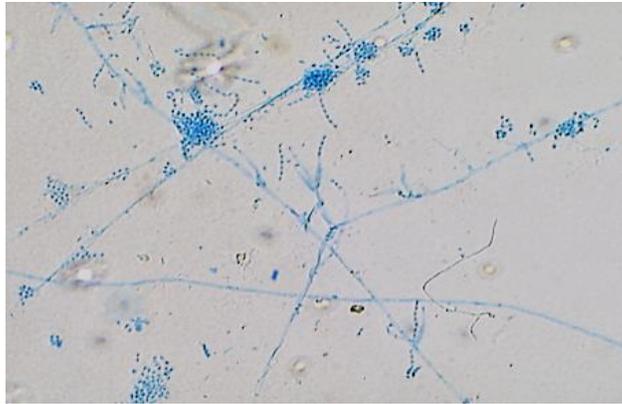


Figura 53. Conidios de *Paecilomyces* sp.

Importancia: Además de causar pudrición avanzada del grano algunas especies de este género producen micotoxinas, como la patulina y la bysotoxina A.



Micromorfología y Macromorfología

Catálogo de imágenes
Géneros: *Aspergillus* y *Penicillium*

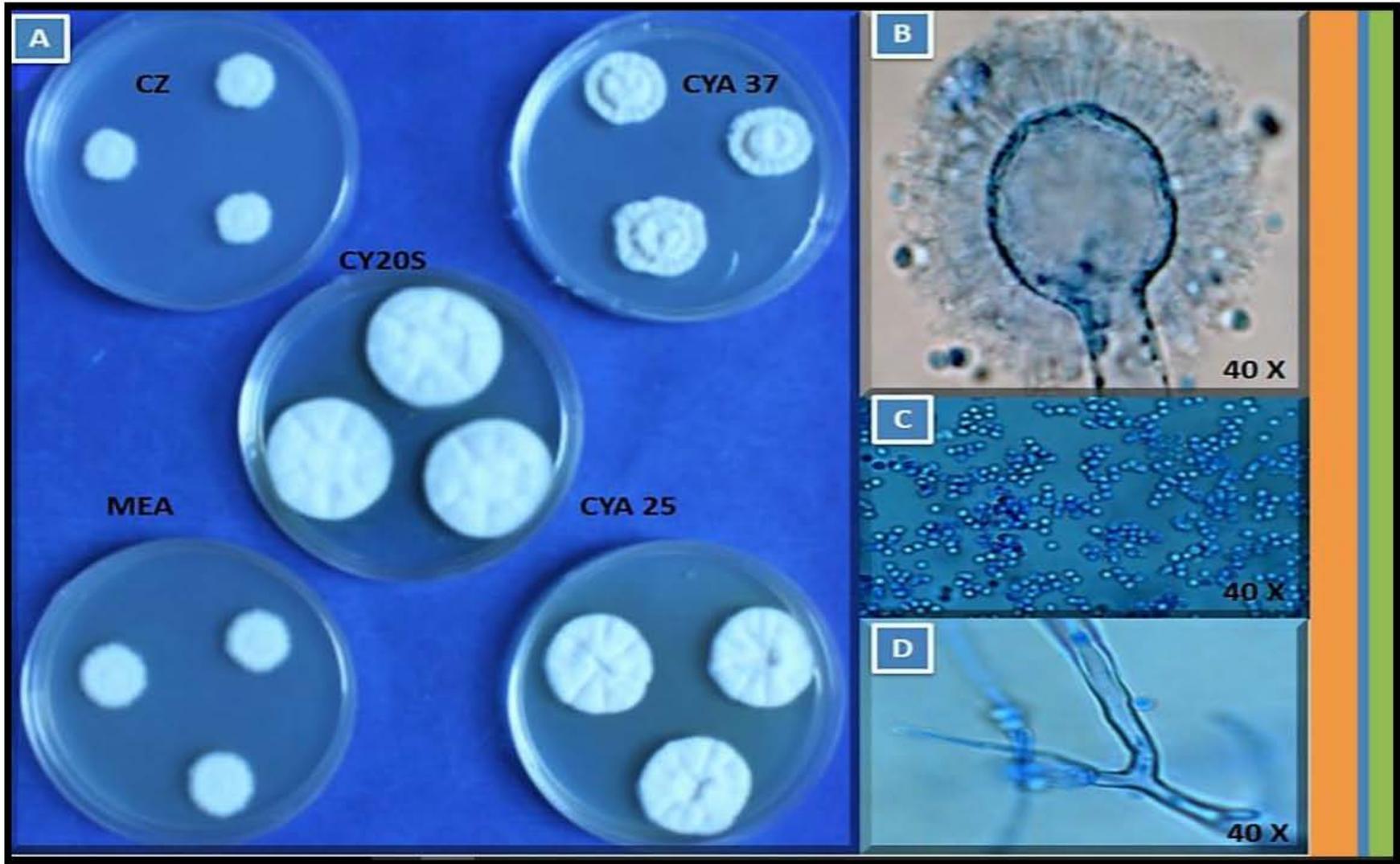


Figura 54. *Aspergillus candidus*: **A.** cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; **B.** cabeza conidial biseriada; **C.** conidios ligeramente ovoides; **D.** hifas.

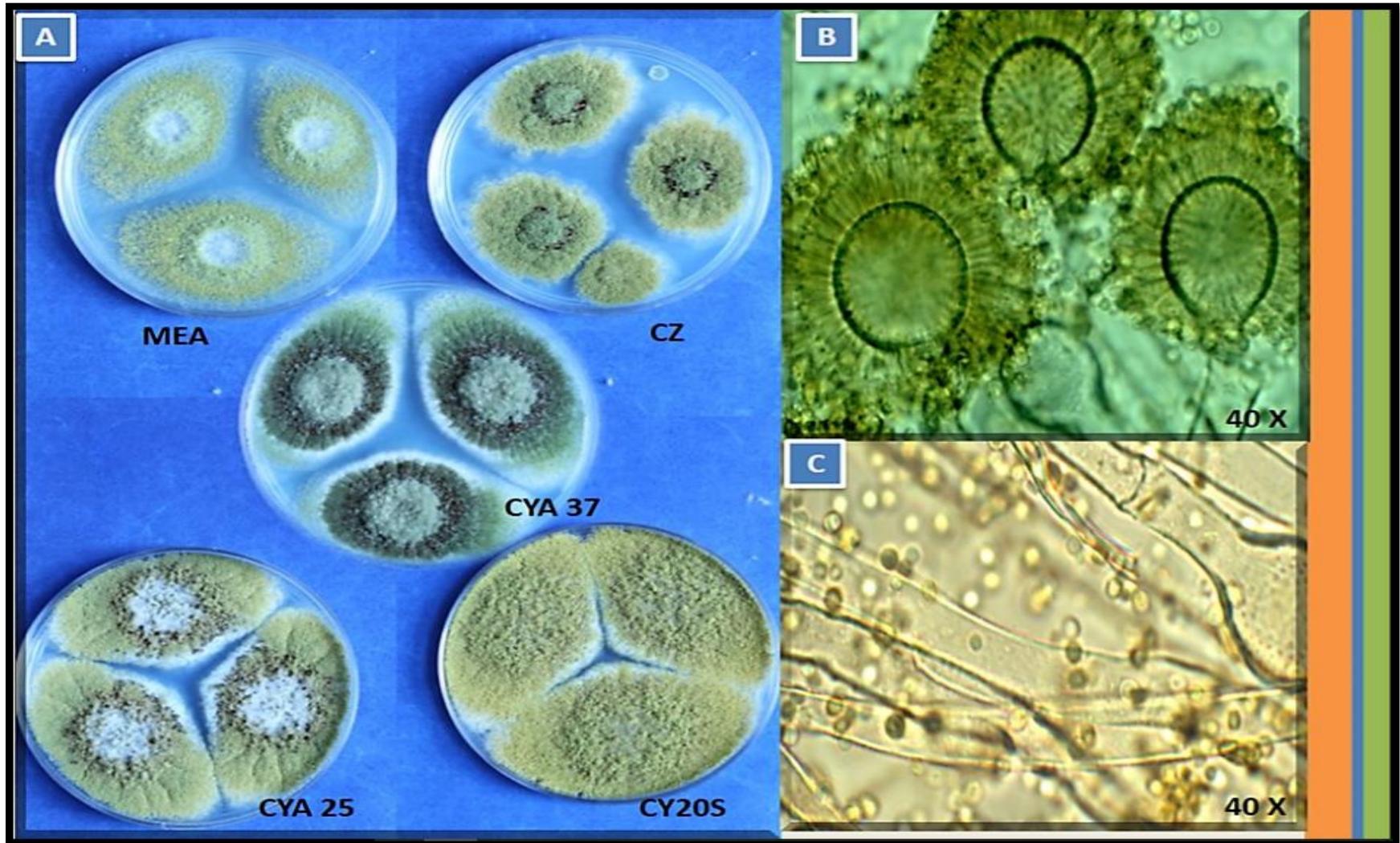


Figura 55. *Aspergillus flavus*: **A.** cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; **B.** cabeza conidial biseriada; **C.** hifas.

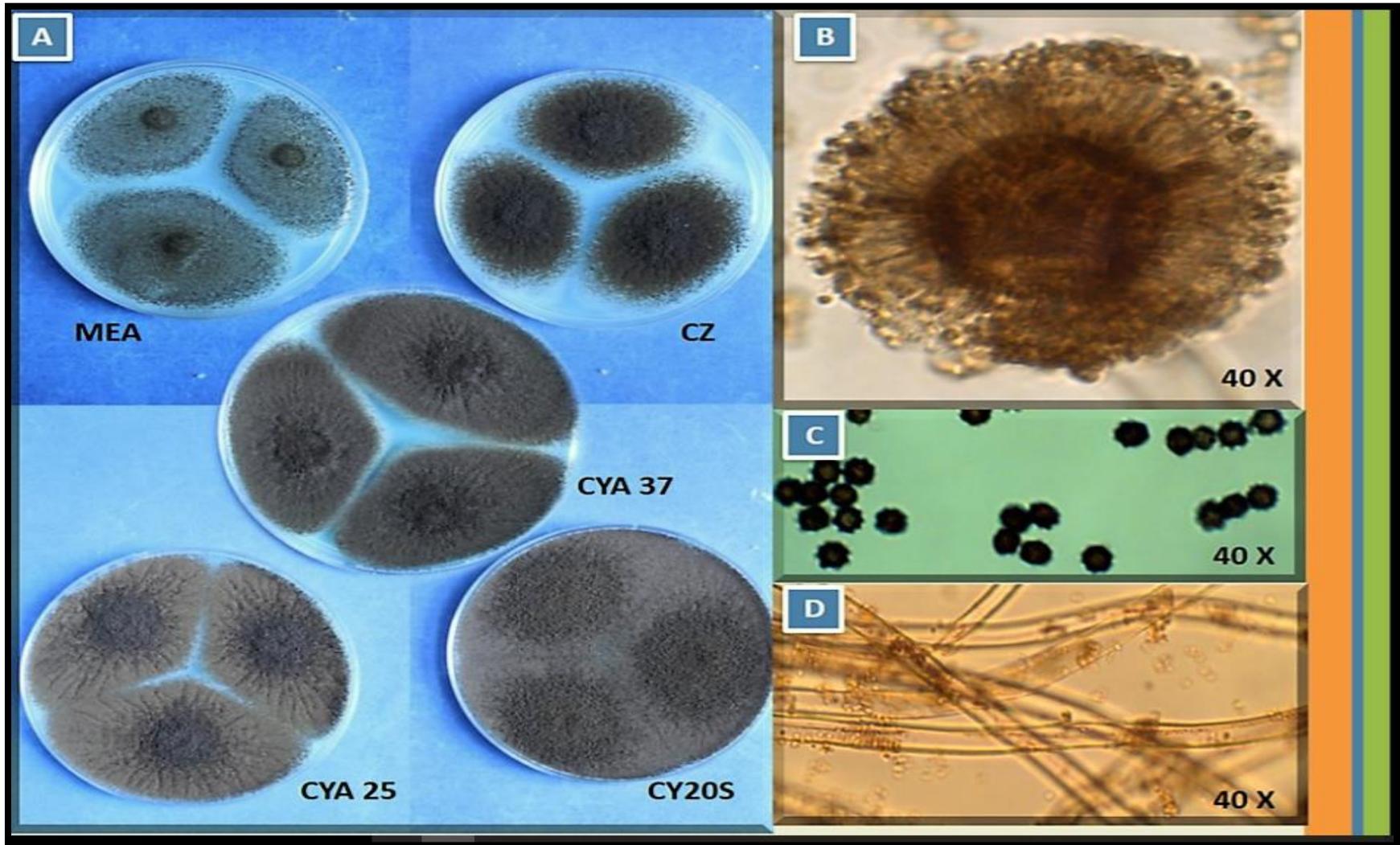


Figura 56. *Aspergillus niger*. **A.** cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; **B.** cabeza conidial biseriada; **C.** conidios globosos con paredes rugosas; **D.** hifas.

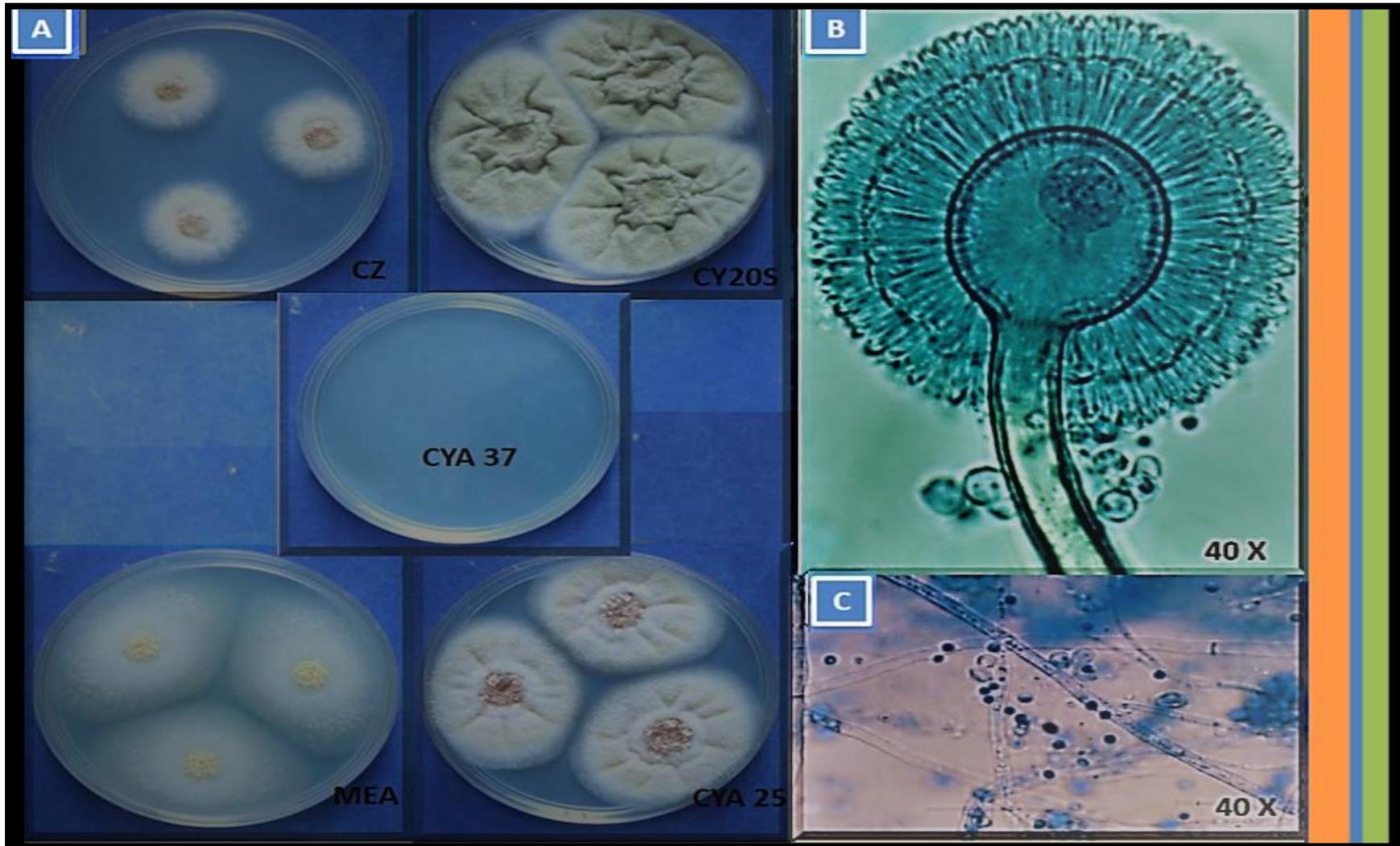


Figura 57. *Aspergillus ochraceus*: **A.** cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; **B.** cabeza conidial biseriada; **C.** hifas.

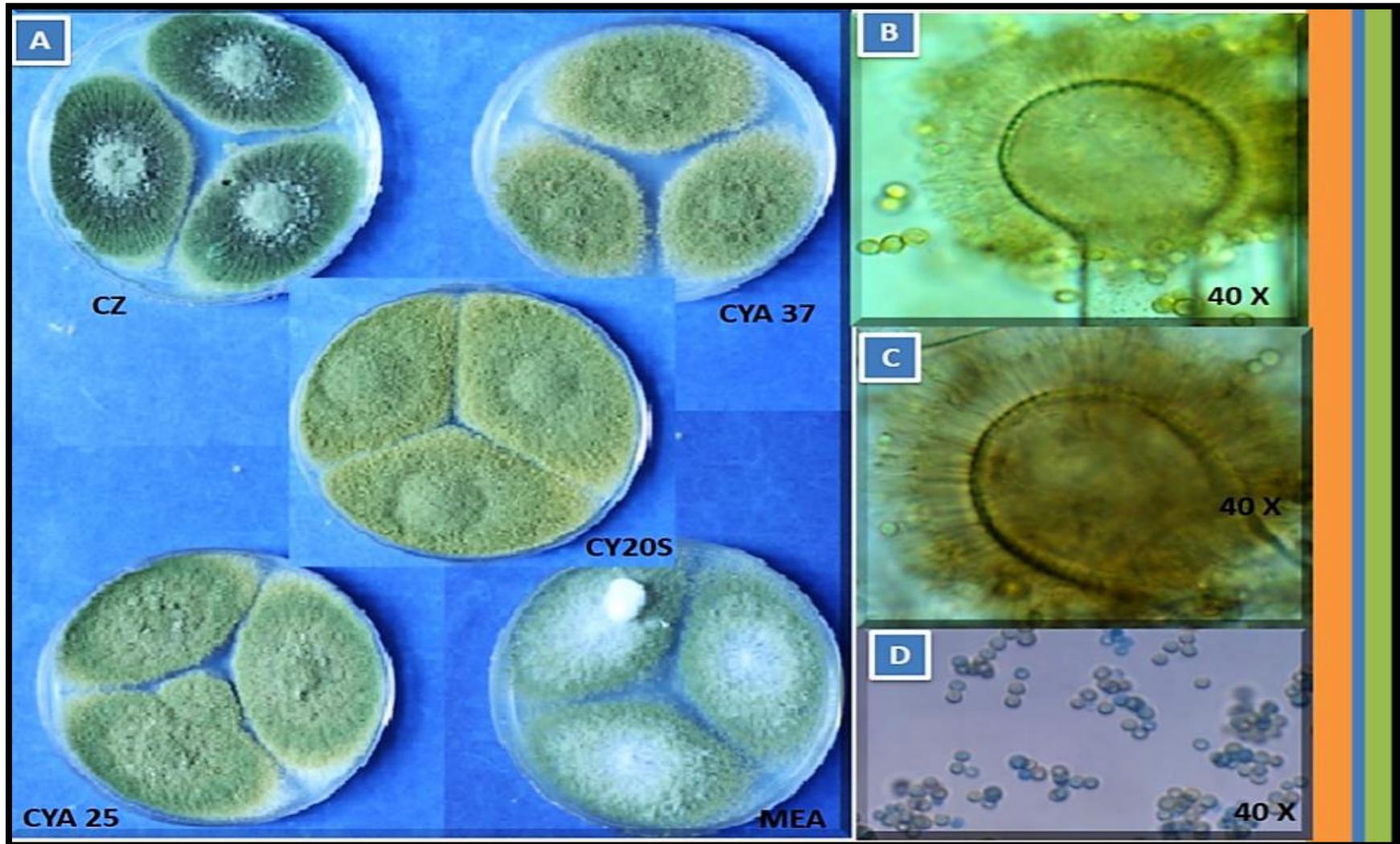


Figura 58. *Aspergillus parasiticus*: **A.** cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; **B y C.** cabeza conidial biseriada; **D.** conidios globosos con paredes rugosas.

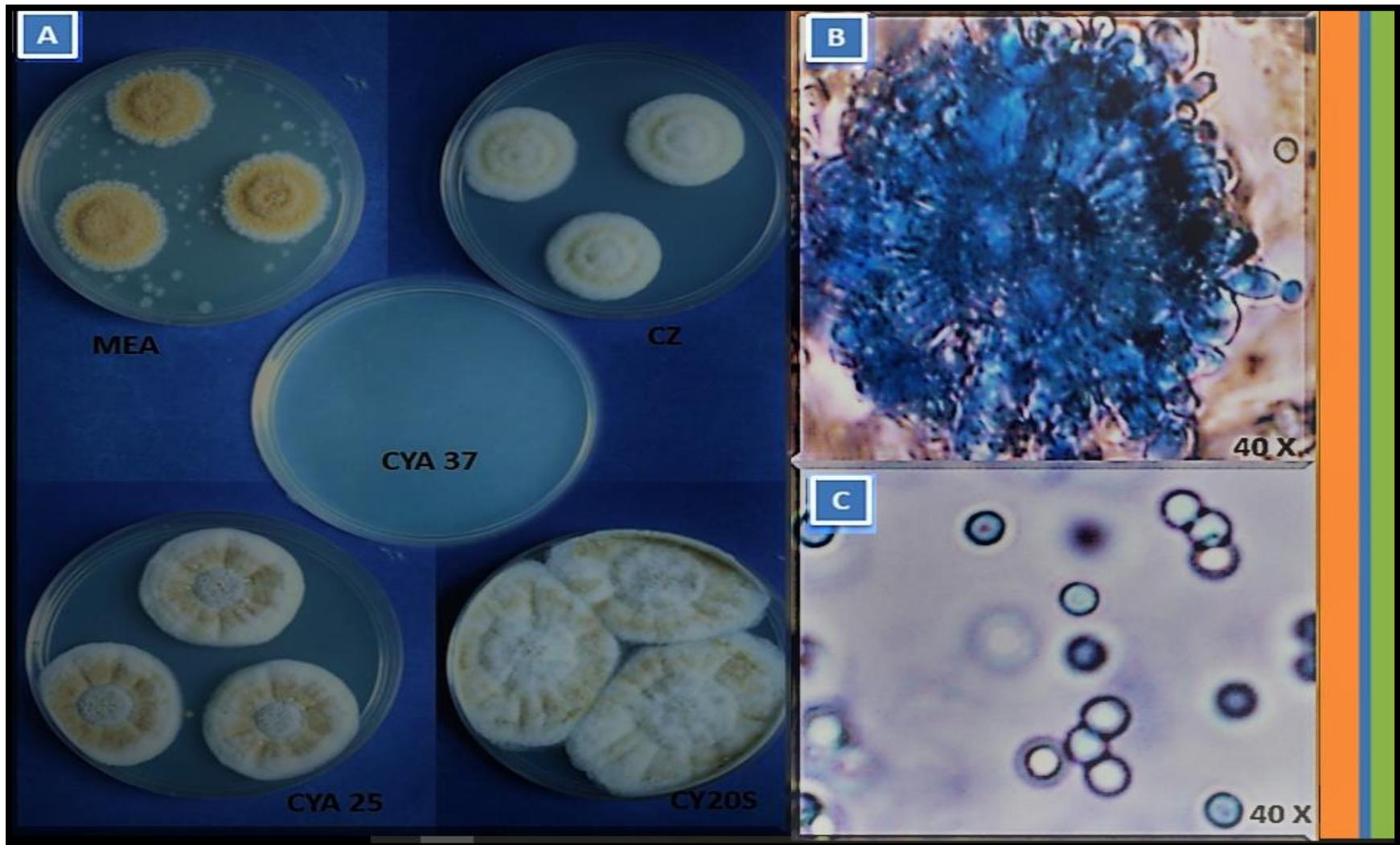


Figura 59. *Aspergillus tamarii*. **A.** cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; **B.** cabeza conidial biseriada; **C.** conidios globosos.

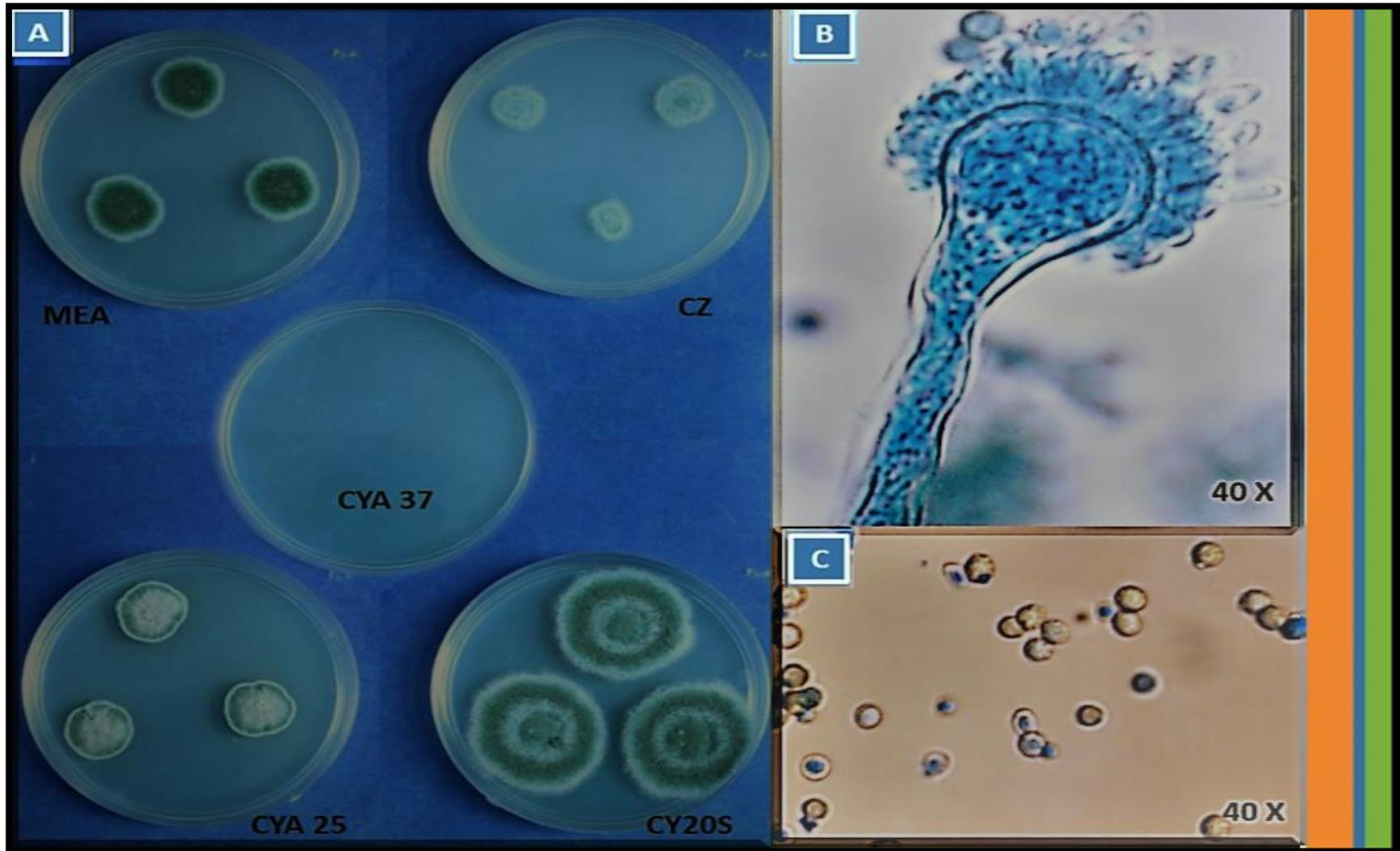


Figura 60. *Aspergillus versicolor*. **A.** cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; **B.** cabeza conidial biseriada; **C.** conidios globosos con paredes ligeramente rugosos.

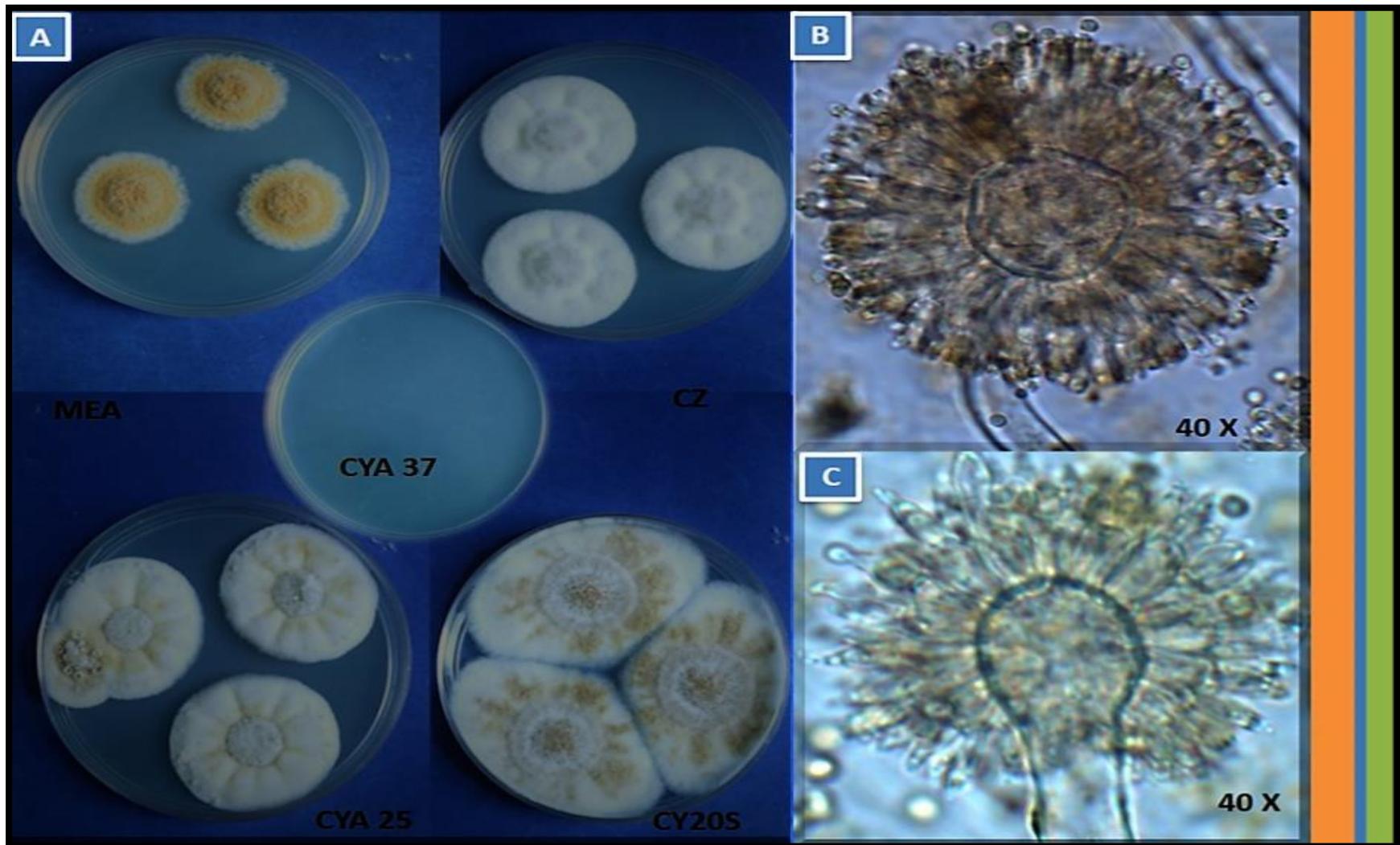


Figura 61. *Aspergillus wentii*: **A.** cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; **B y C.** cabezas conidiales biseriadas.

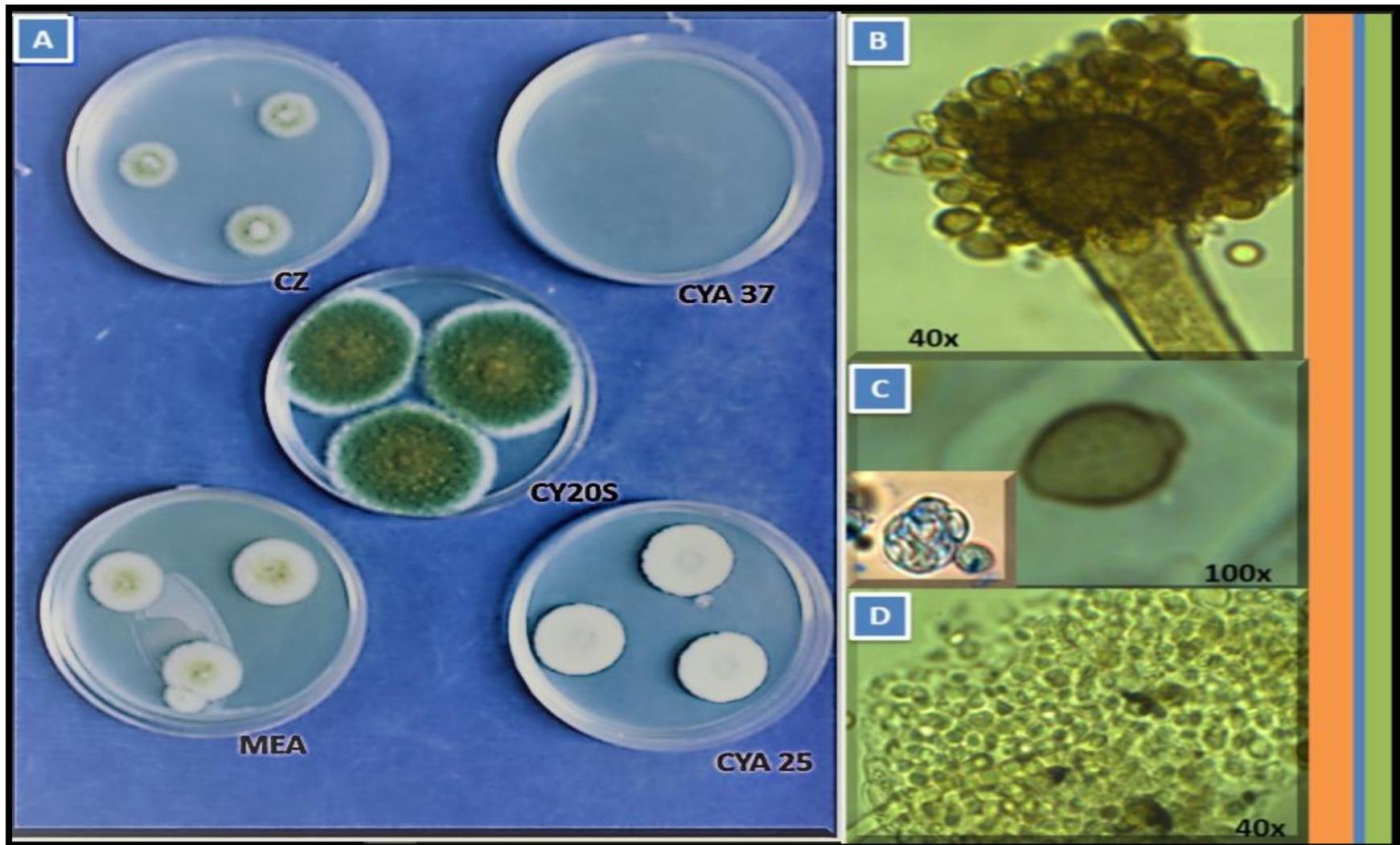


Figura 62. *Eurotium amstelodami*: **A.** cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; **B.** cabeza conidial uniseriada; **C.** asca globosa con ascosporas lenticulares y conidio subgloboso; **D** cleistotecio.

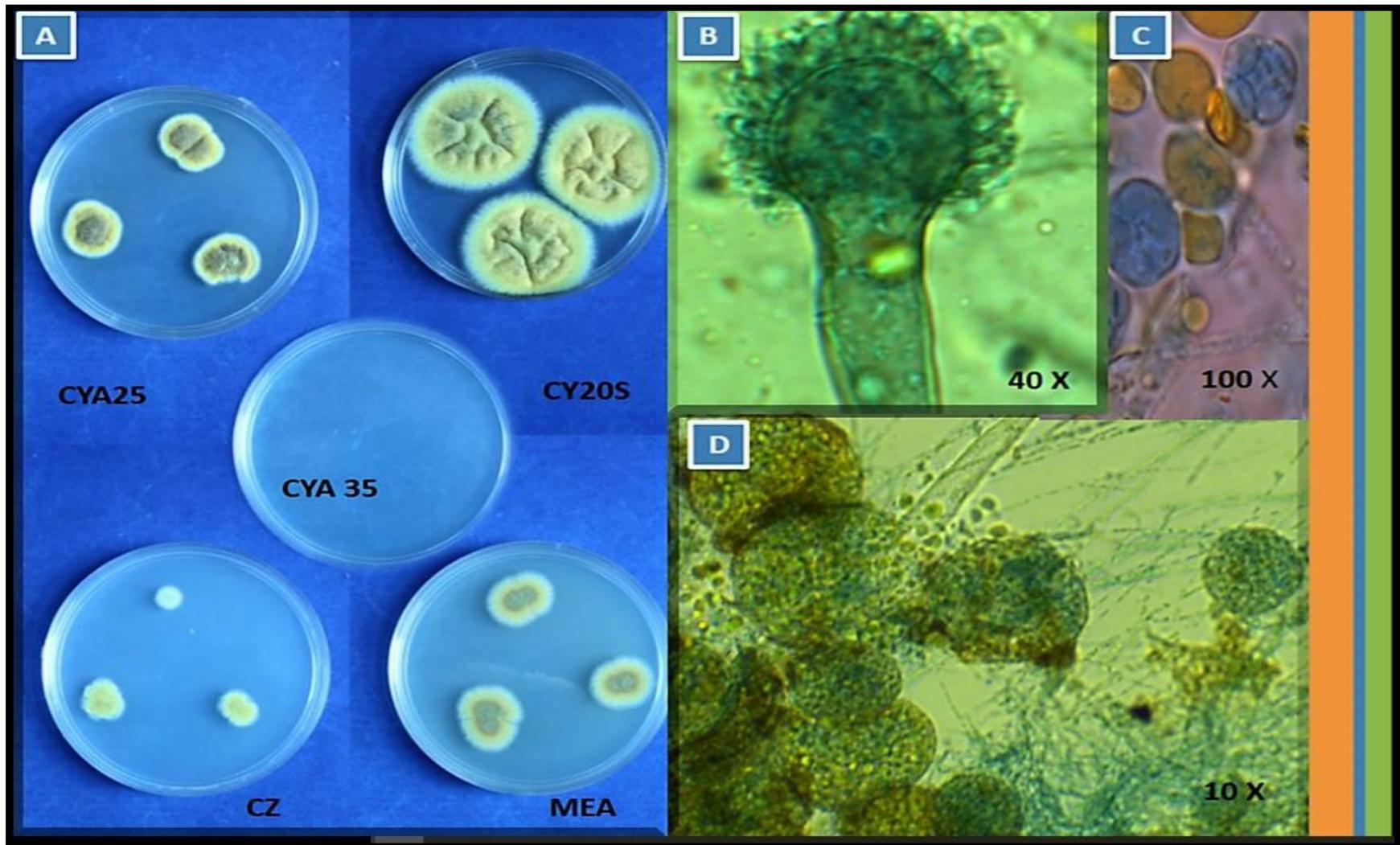


Figura 63. *Eurotium chevalieri*: **A.** cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; **B.** cabeza conidial uniseriada; **C.** ascas con ascosporas lenticulares; **D** cleistotecios globosos a subglobosos.

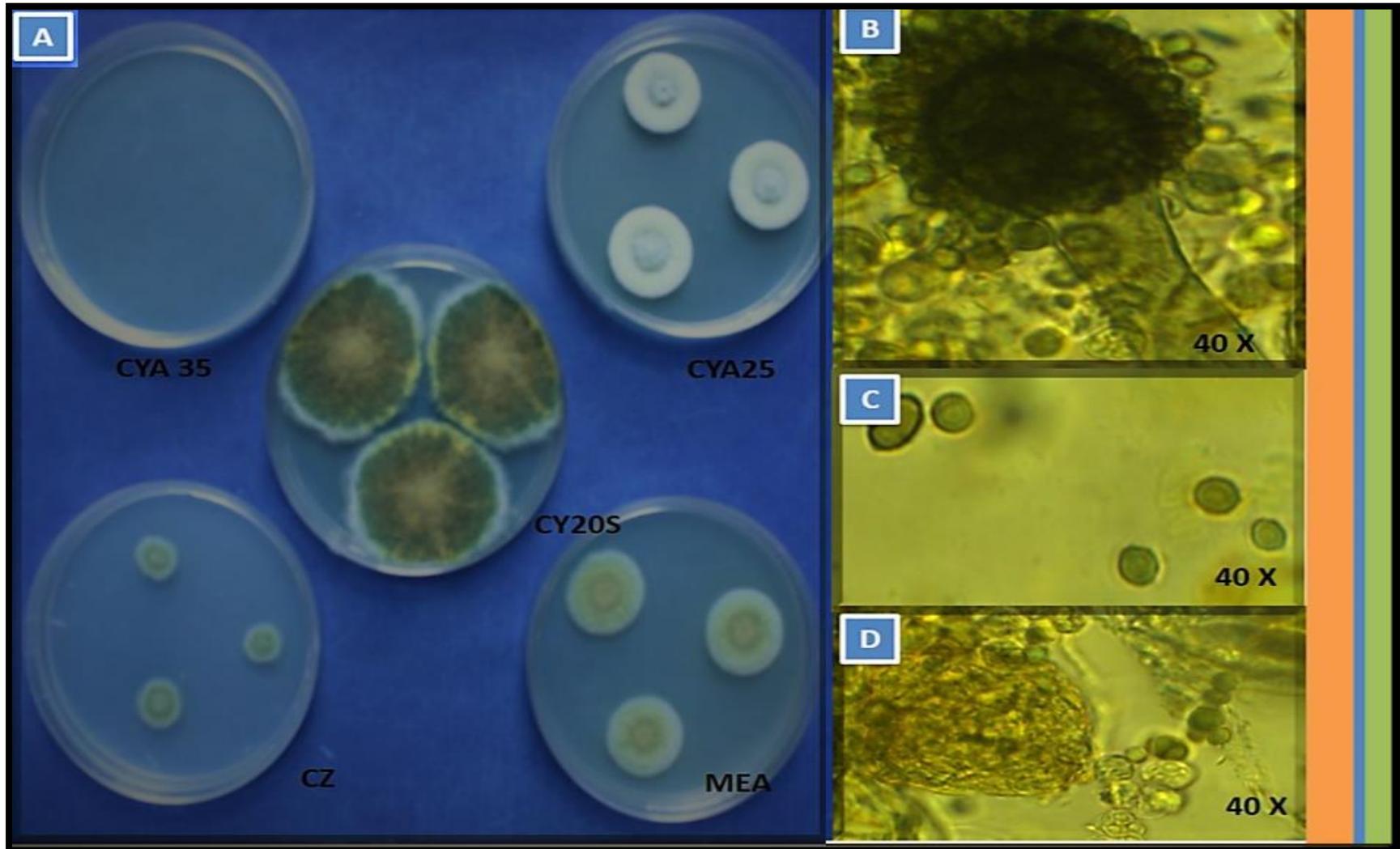


Figura 64. *Eurotium herbariorum*: **A.** cultivos de 7 días de desarrollo, CZ, CY20S, MEA, CYA a 25°C y CYA a 37°C; **B.** cabeza conidial uniseriada; **C.** conidios esféricos a elipsoidales equinulados; **D** cleistotecio con ascas y ascosporas lenticulares con un surco.

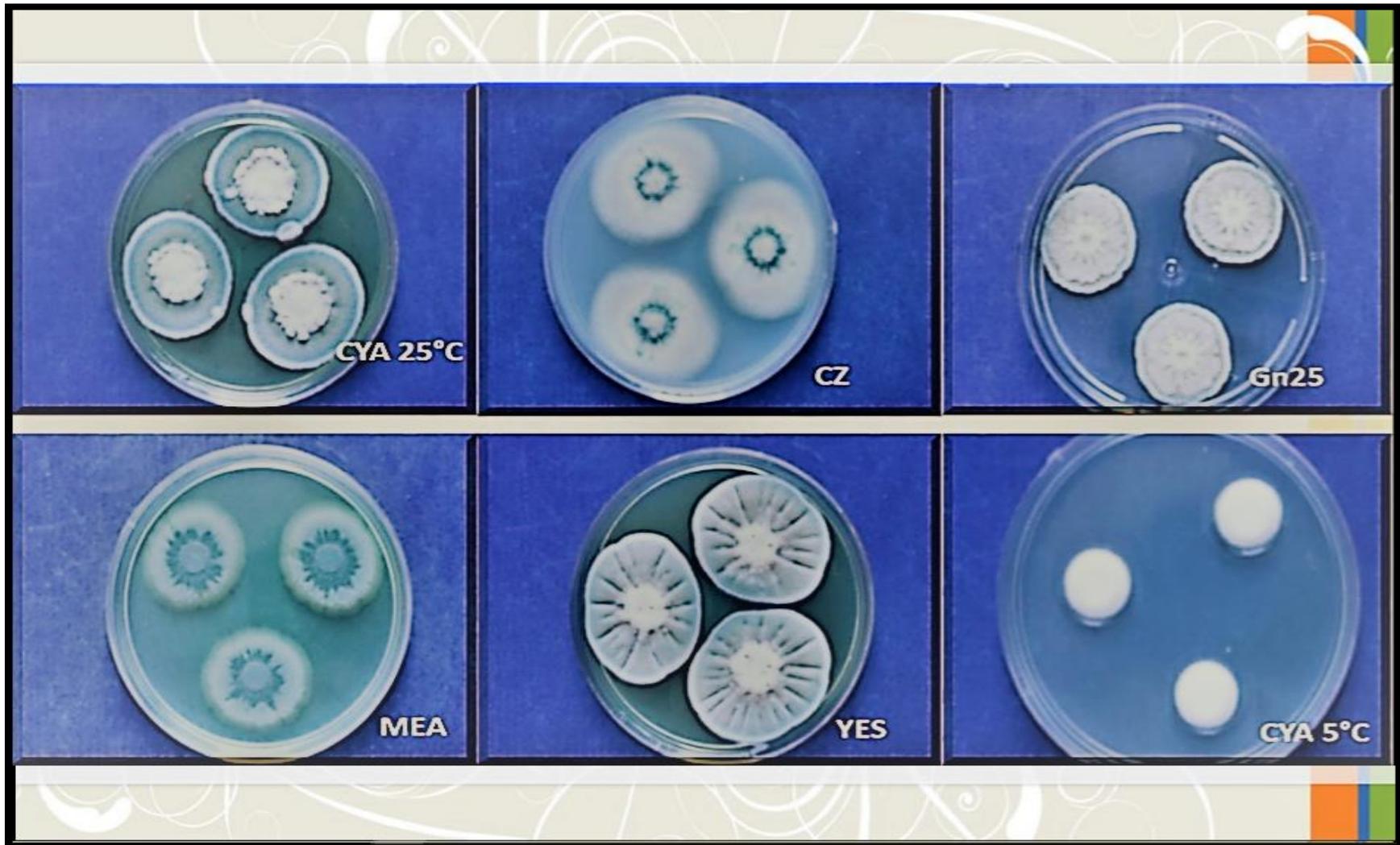


Figura 65. *Penicillium aurantiogriseum*: cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, Gn25, YES, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C.

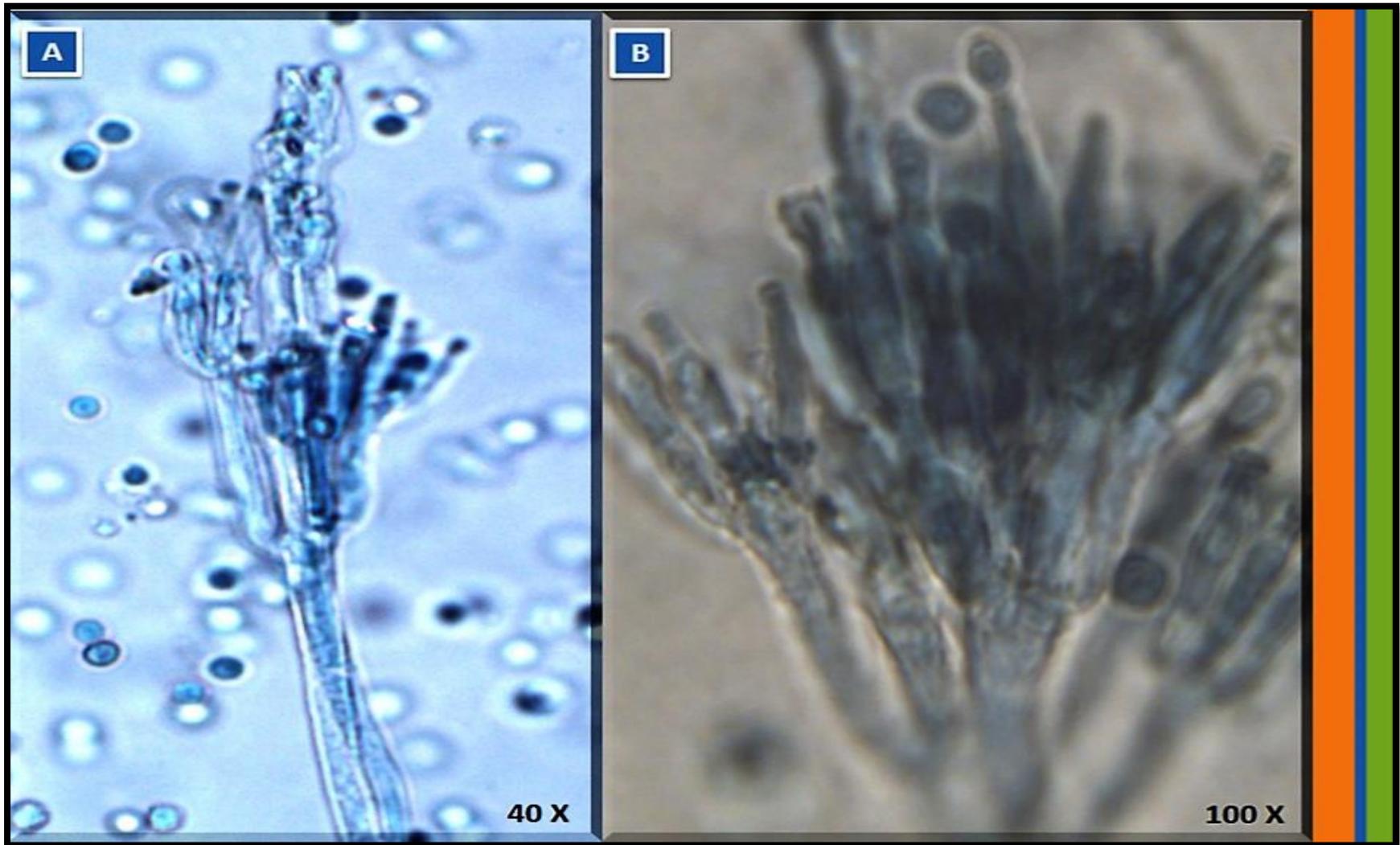


Figura 66. Micromorfología de *Penicillium aurantiogriseum*: A y B. conidióforos terverticilados.

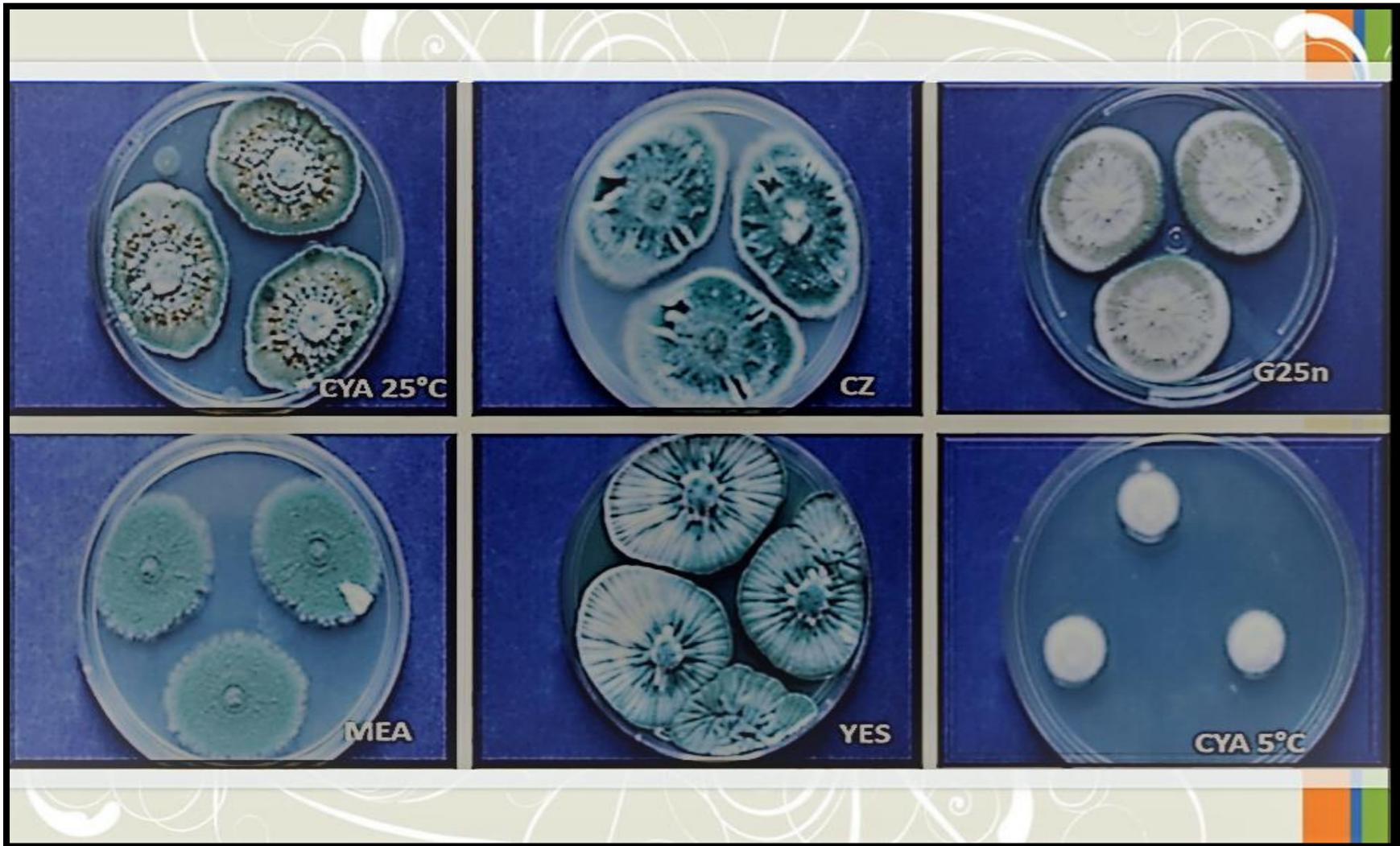


Figura 67. *Penicillium var. aurantiigriseum*: cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, Gn25, YES, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C.

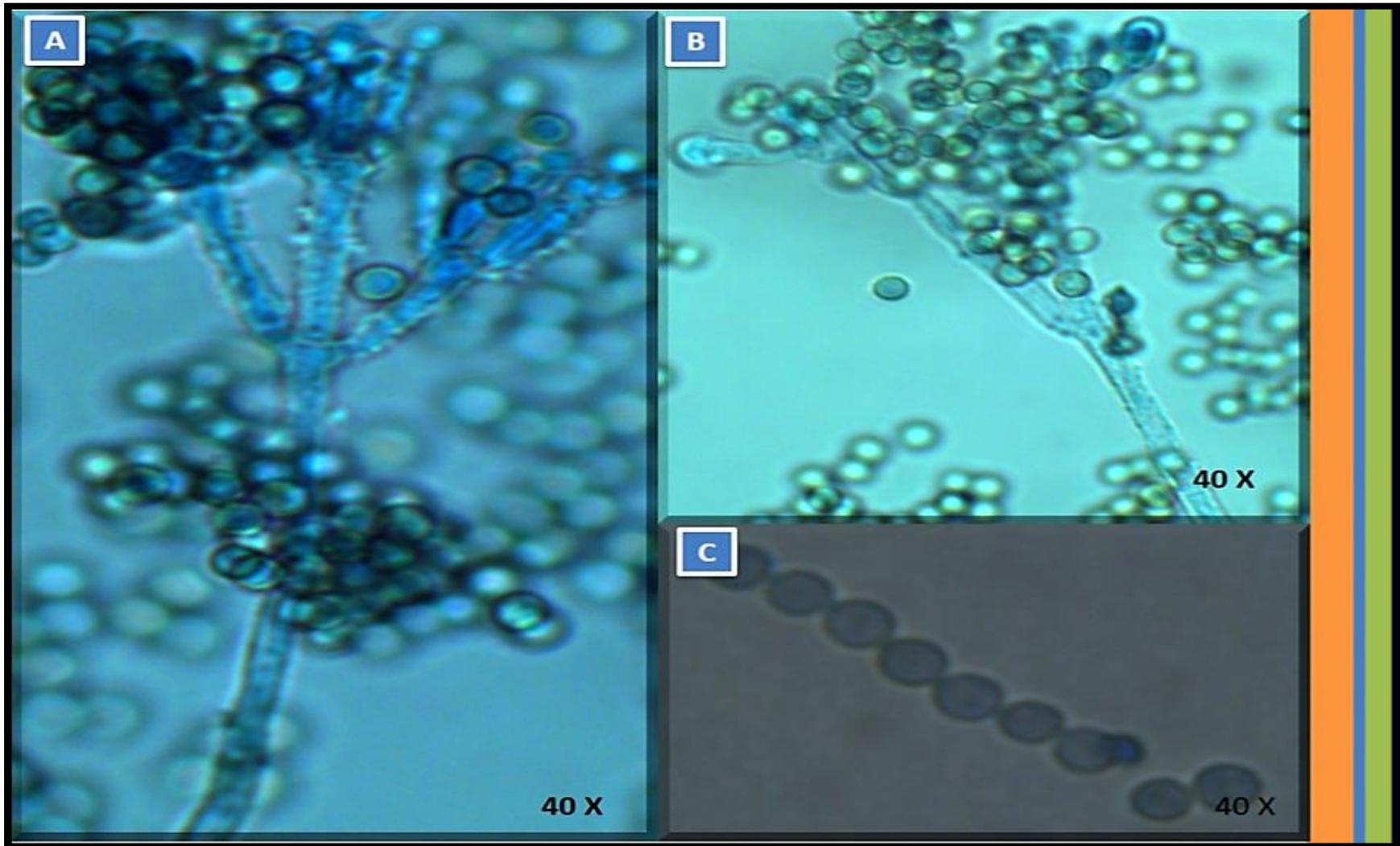


Figura 68. Micromorfología de *Penicillium* var. *aurantiogriseum*: A y B. conidióforo terveticilado; C. conidios ligeramente ovoides.

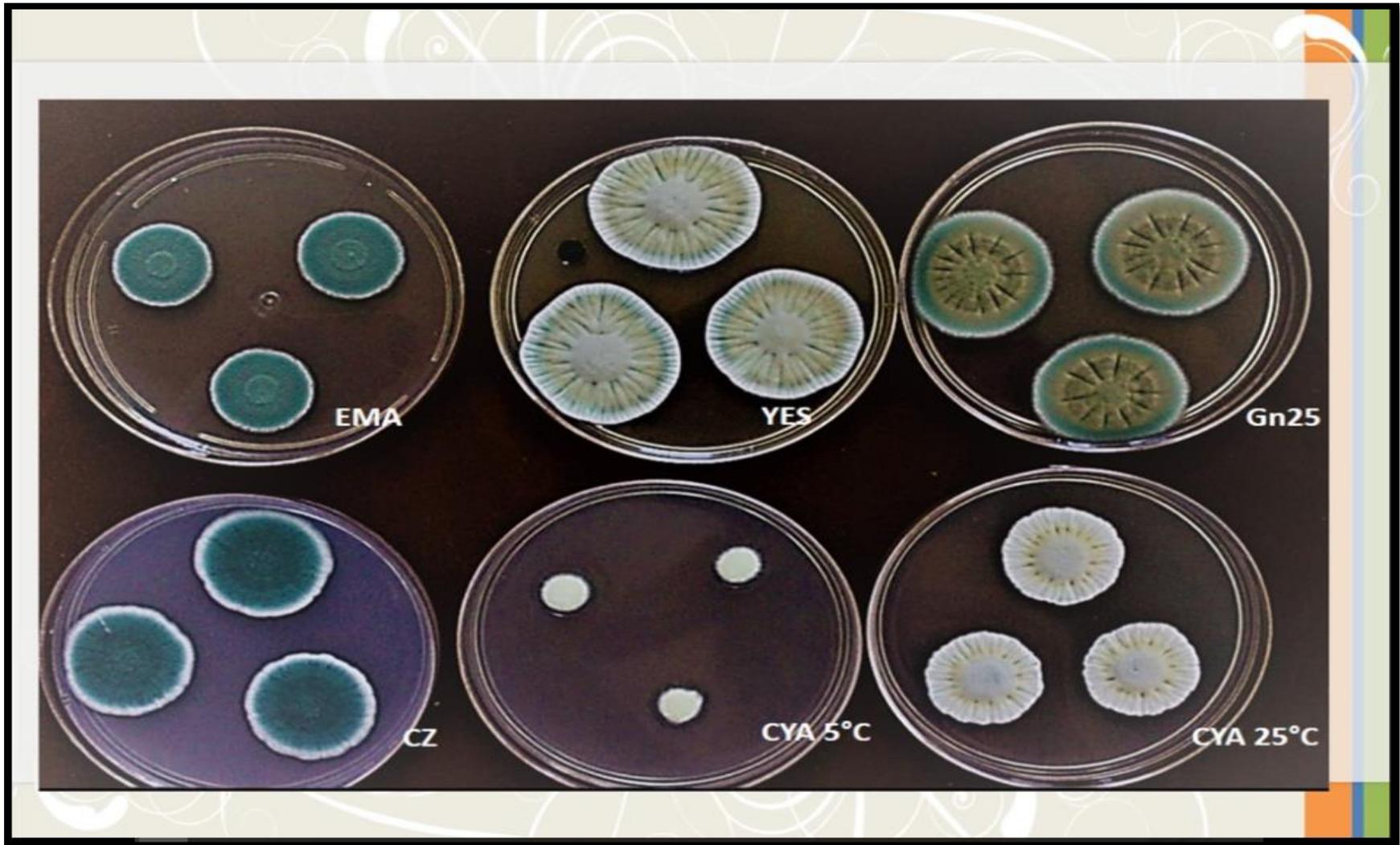


Figura 69. *Penicillium aurantiogriseum* var. *viridicatum*: cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, CYA, Gn25, YES, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C.

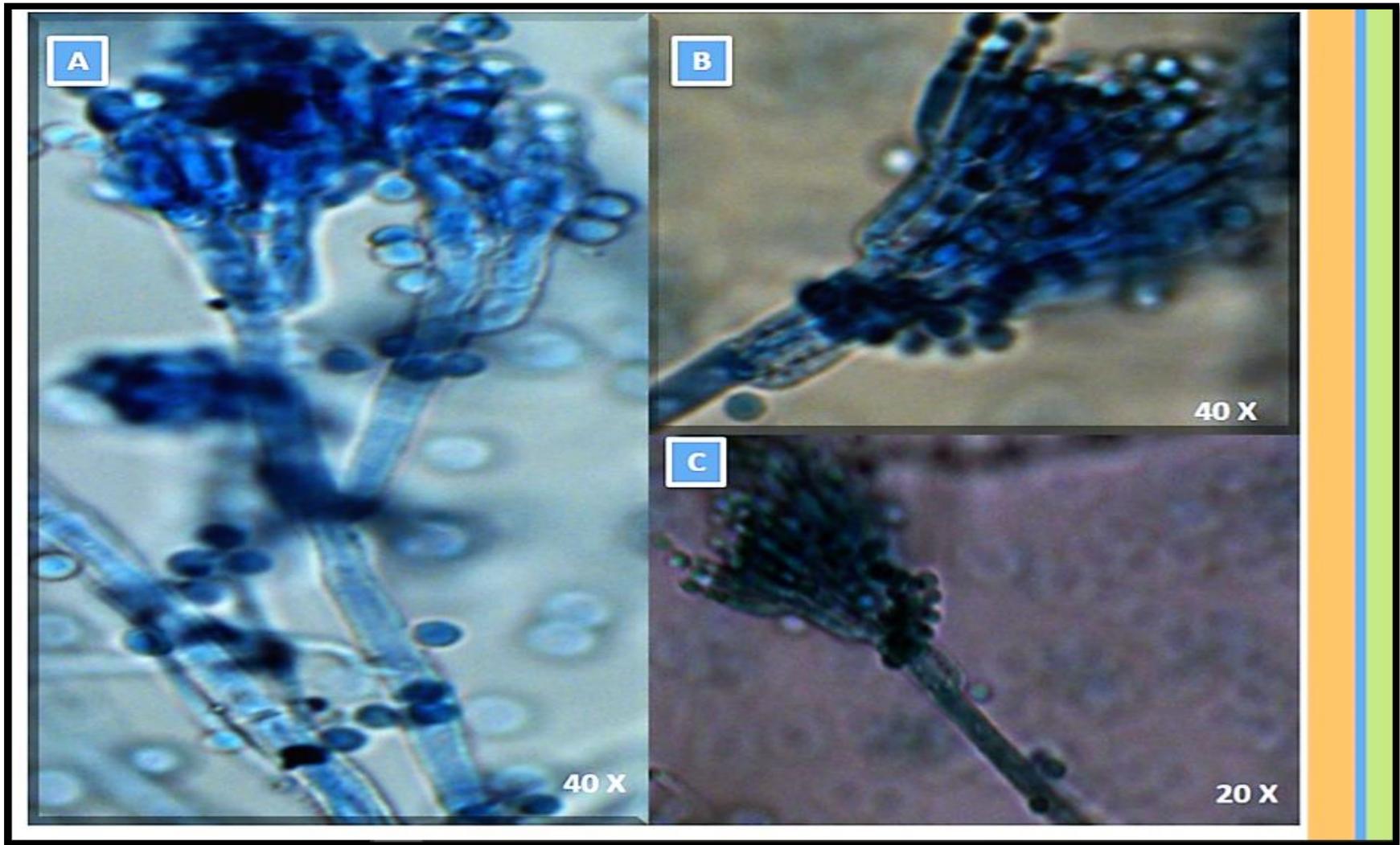


Figura 70. Micromorfología de *Penicillium aurantiogriseum* var. *viridicatum*: A, B y C. conidióforos terverticilados.

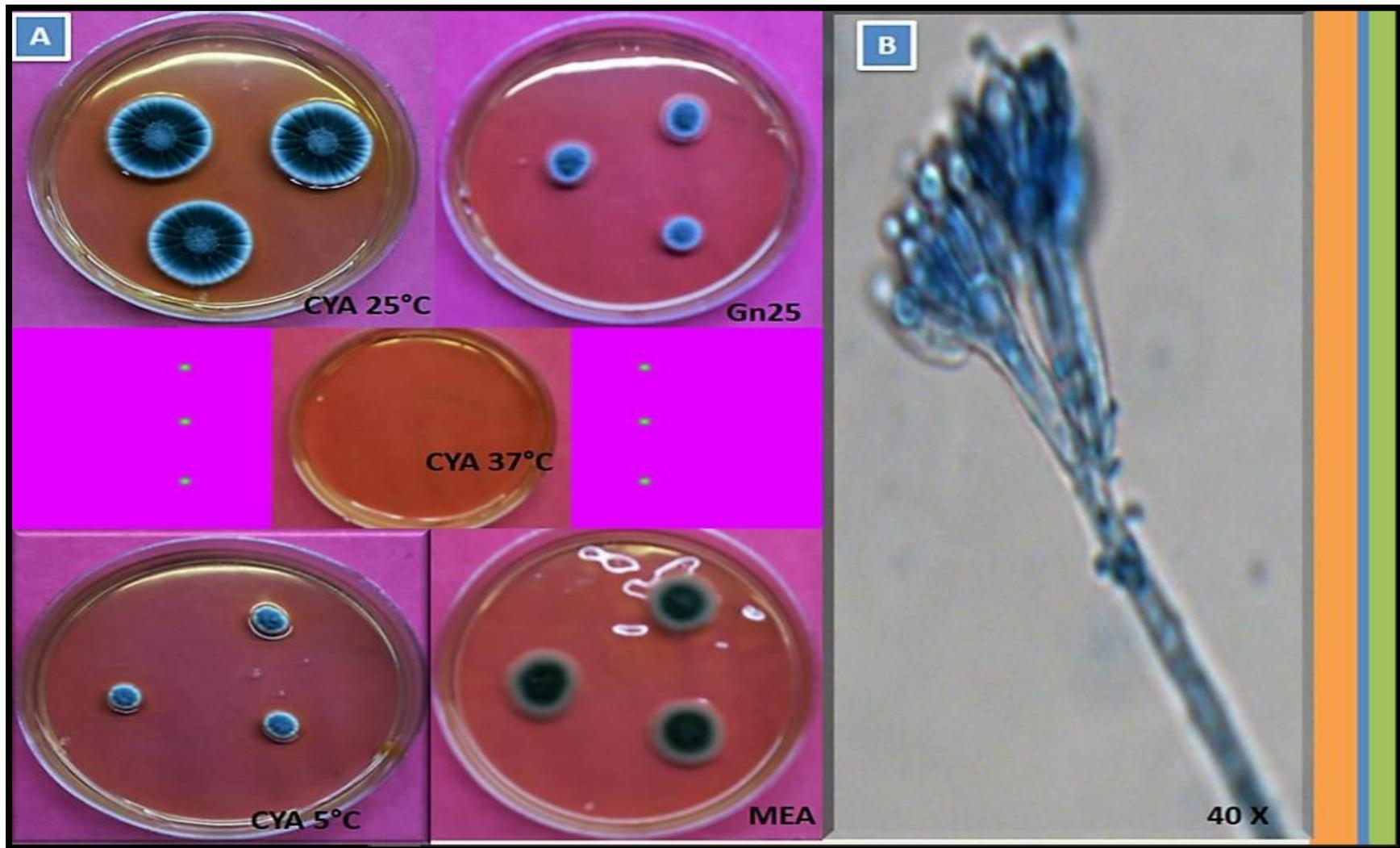


Figura 71. *Penicillium citrinum*: **A.** cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, Gn25, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C; **B.** conidióforo terverticilado.



Figura 72. *Penicillium commune*: cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, Gn25, YES, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C.

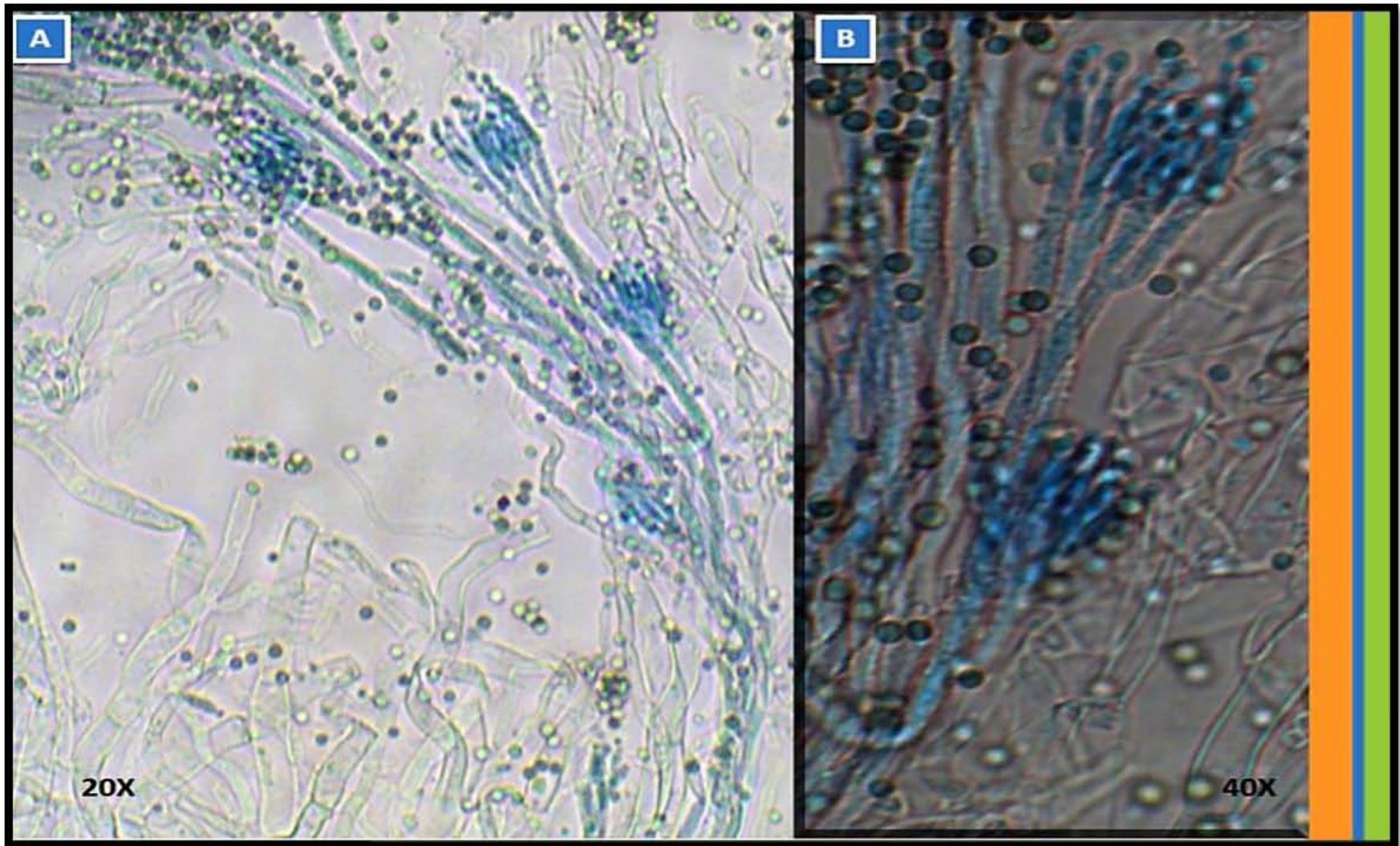


Figura 73. Micromorfología de *Penicillium commune*: A y B. conidióforos terverticilados.

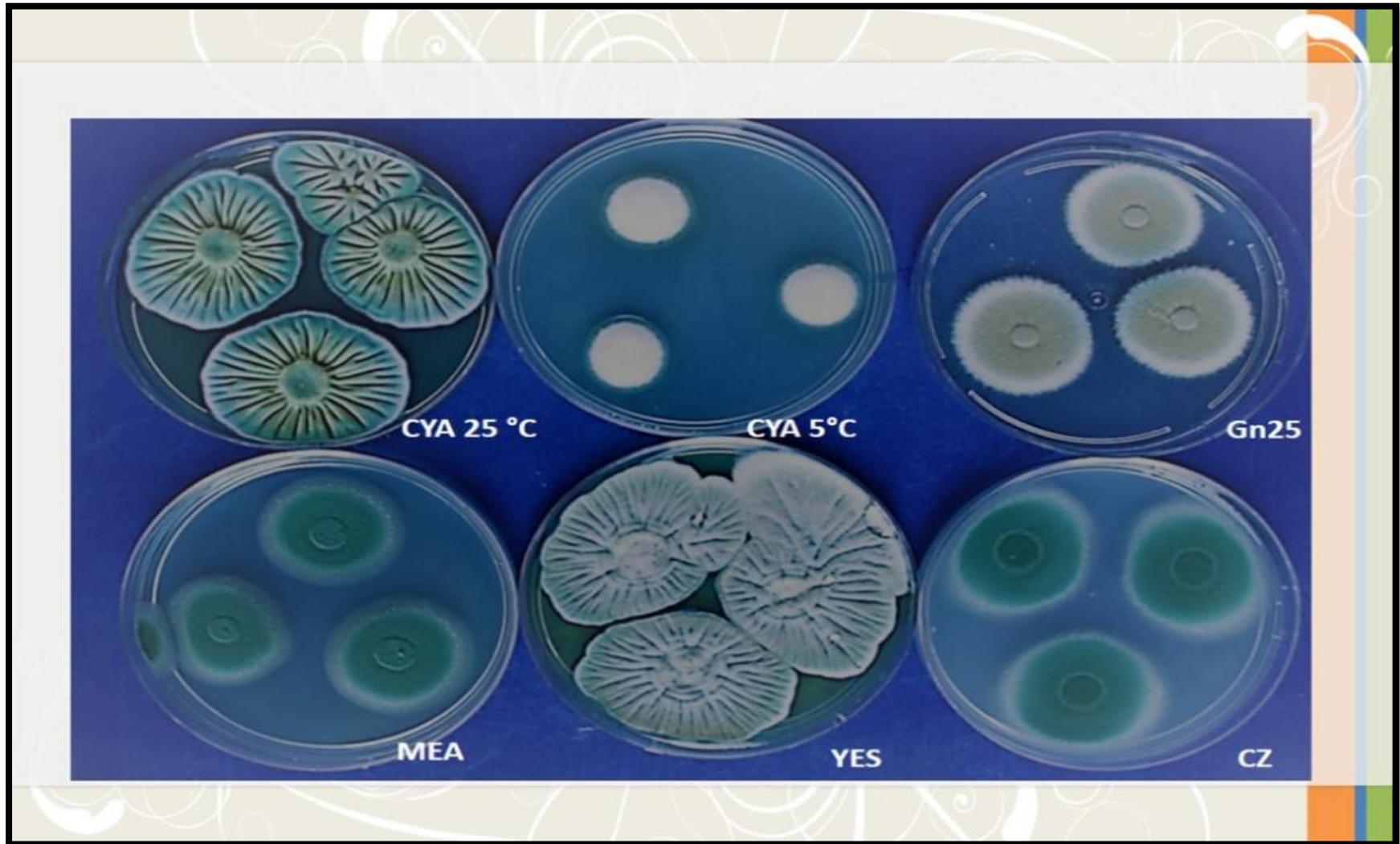


Figura 74. *Penicillium chrysogenum*: cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, Gn25, YES, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C.

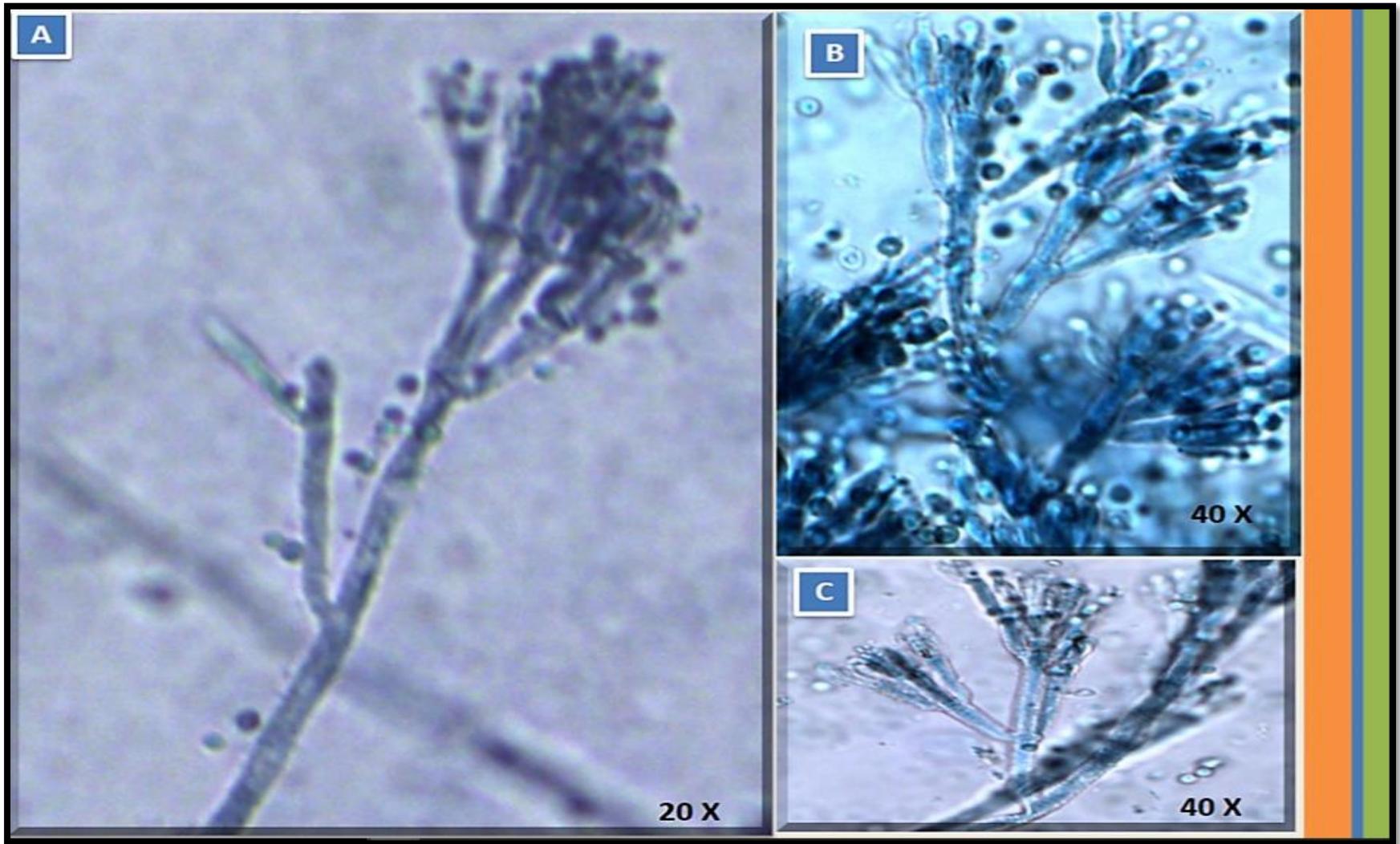


Figura 75. Micromorfología de *Penicillium chrysogenum*: A, B y C. conidióforos terverticilados.

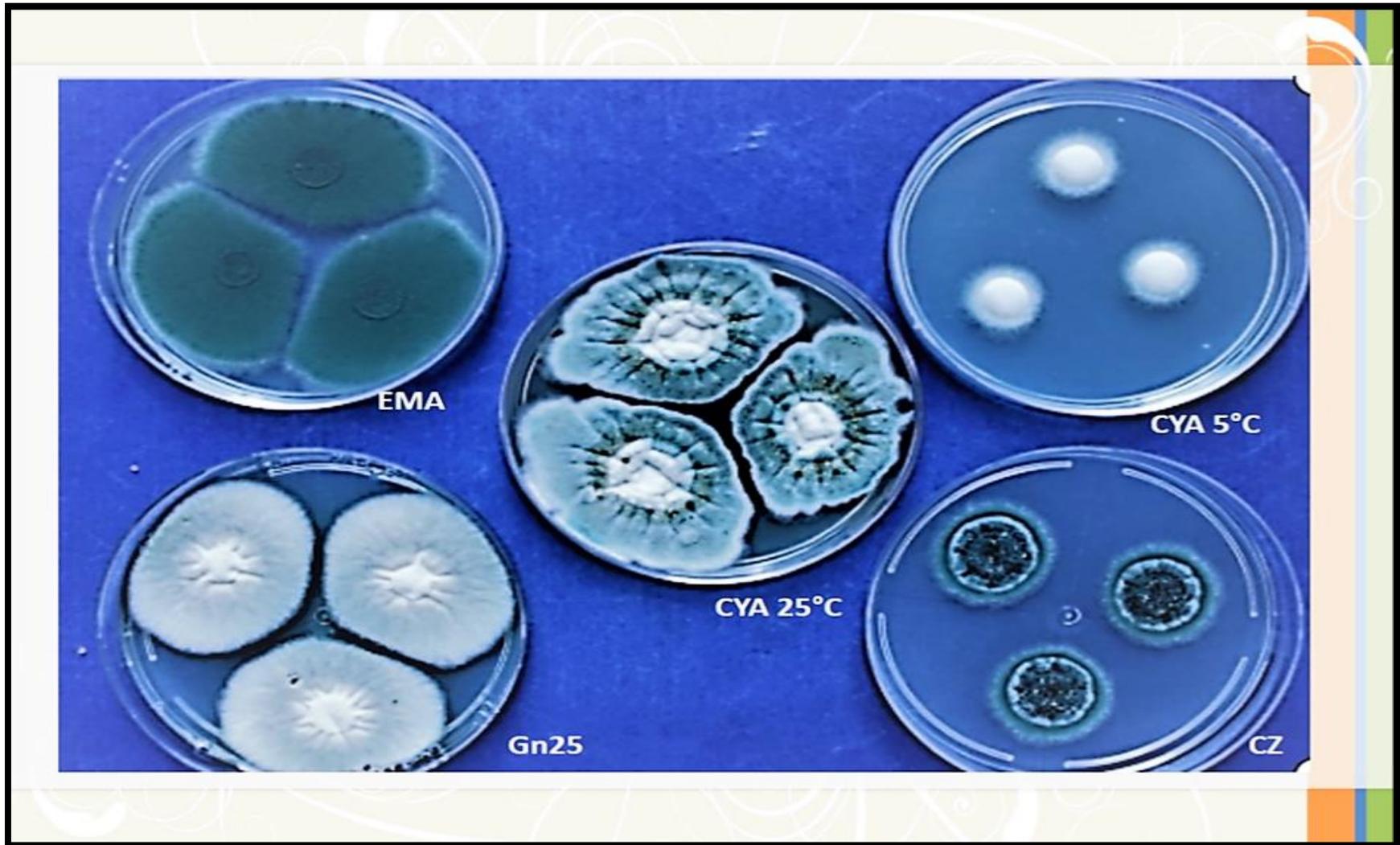


Figura 76. *Penicillium crustosum*: cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, Gn25, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C.

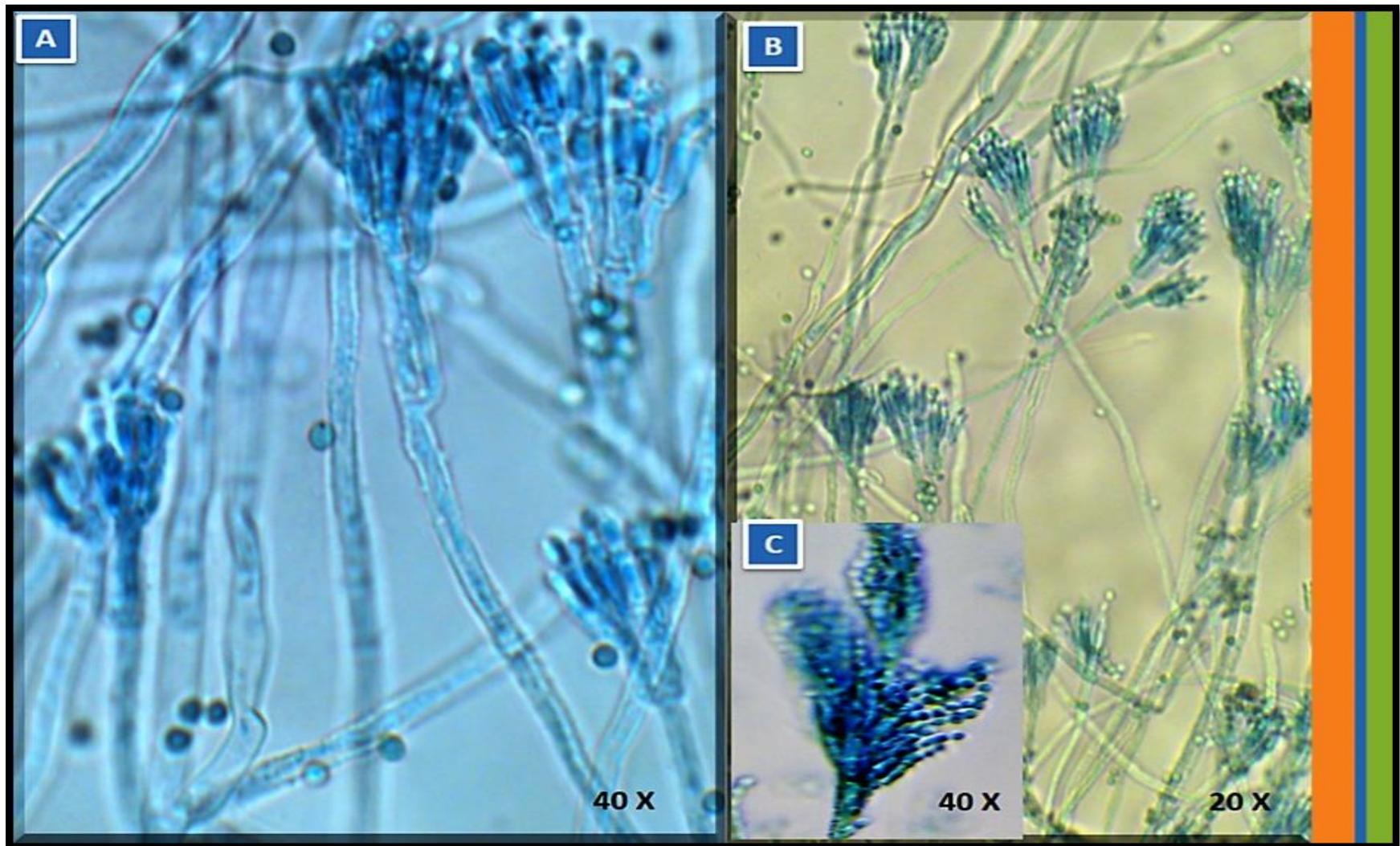


Figura 77. Micromorfología de *Penicillium crustosum*: A, B y C. conidióforos terverticilados.

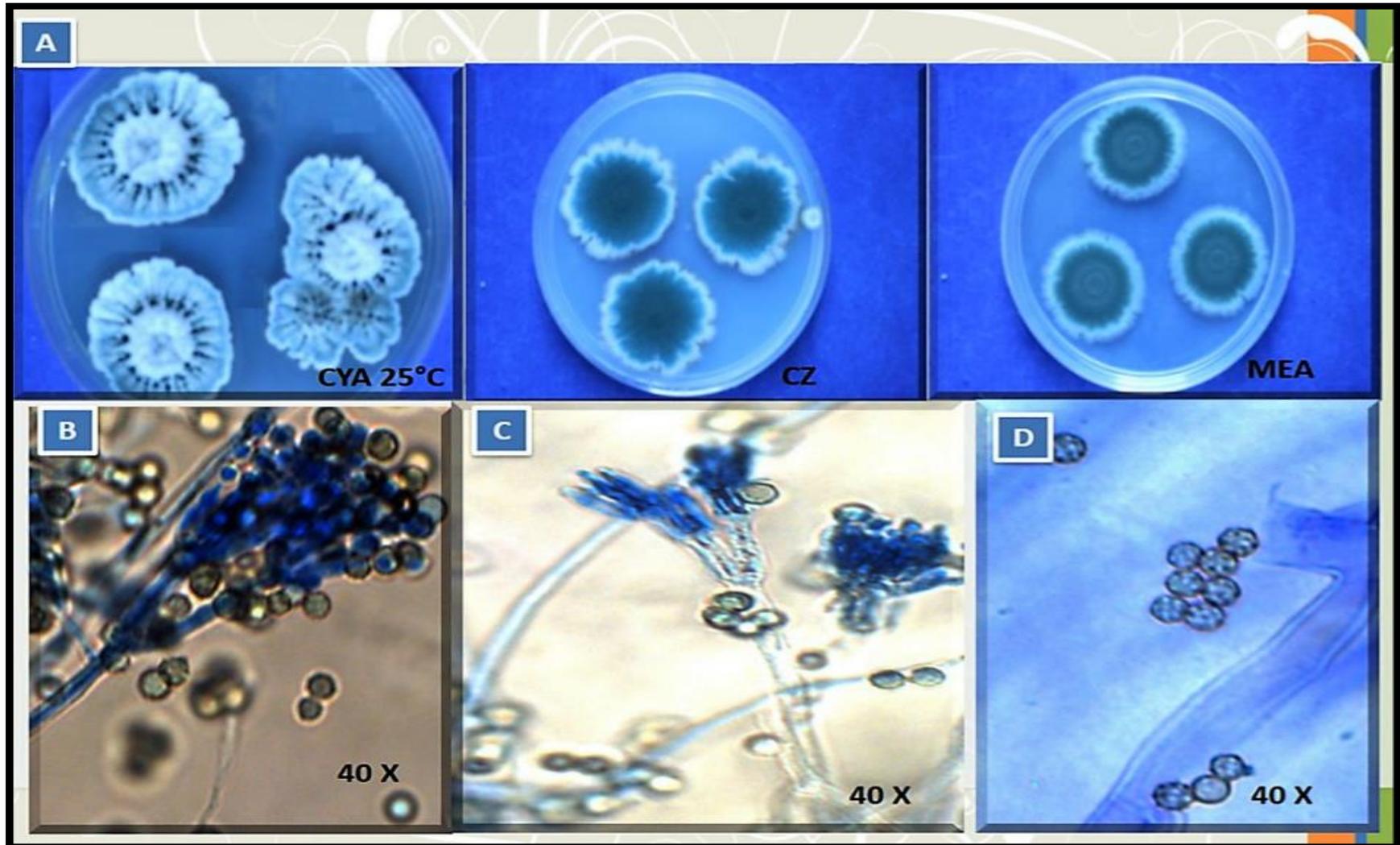


Figura 78. Micromorfología de *Penicillium echinulatum*: **A.** cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en MEA, CZ, CYA a 25 °C; **B y C.** conidióforos terverticilados; **D.** conidios con paredes rugosas.

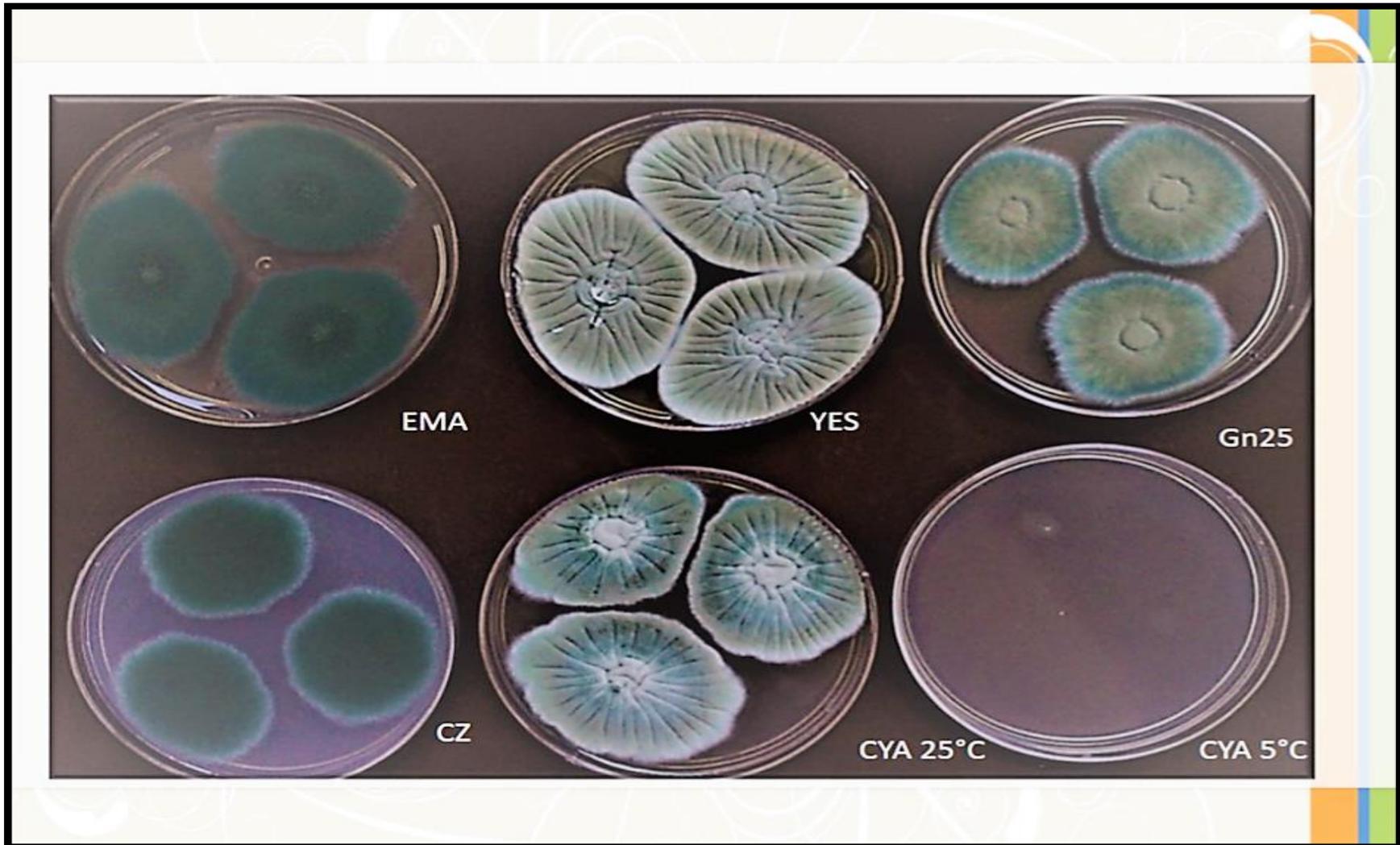


Figura 79. *Penicillium expansum*: cultivos de 7 días de desarrollo de la macromorfología en EMA, Gn25, YES, CZ, CYA a 25 °C y CYA a 5 °C.

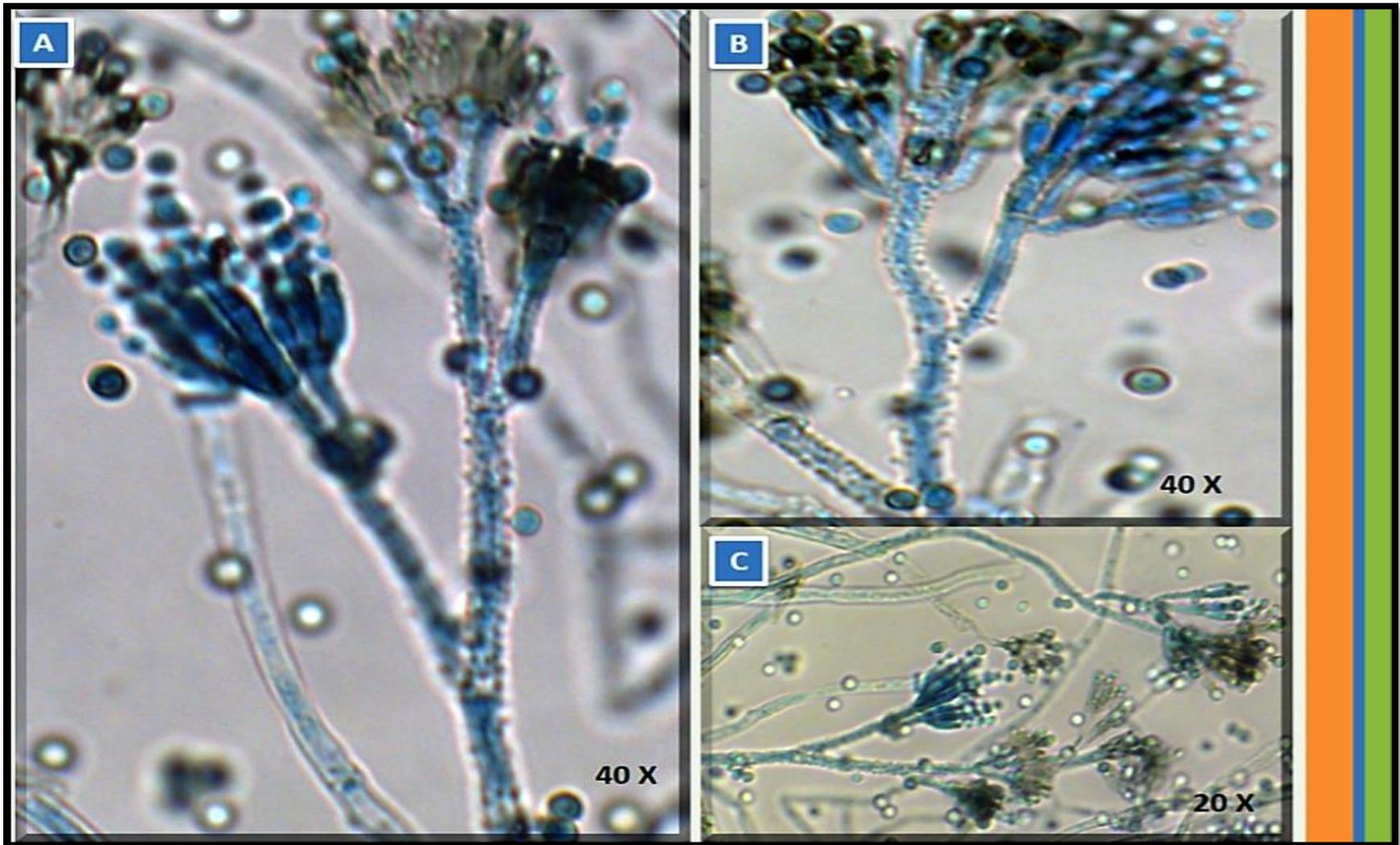


Figura 80. Micromorfología de *Penicillium expansum*: A, B y C conidióforos terverticilados.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos de las 24 muestras de girasol analizadas destinadas a la alimentación humana y animal, presentaron una alta incidencia, principalmente, de hongos de almacén, deterioro avanzado y bacterias mesófilas, lo cual nos indica que no son granos de recién cosecha y que además no tuvieron las condiciones adecuadas durante el almacenamiento, causando biodeterioro y provocando así mismo, daños en el grano.

Las muestras analizadas de grano de girasol envasado, para consumo humano, presentaron una baja incidencia de hongos de campo, prevaleciendo los géneros de hongos de almacén, principalmente *Penicillium* y *Eurotium*, así como una alta incidencia de bacterias mesófilas, encontrando una mala calidad sanitaria.

En el grano de girasol a granel para consumo humano se presentó una alta incidencia de *Rhizopus*, considerado un hongo de deterioro avanzado, seguido de los hongos de almacén *Penicillium* y *Eurotium*, así como bacterias mesófilas, concluyendo que su calidad sanitaria es mala.

El grano de girasol envasado para consumo animal, en la mayoría de las muestras, se presentó una alta incidencia de hongos de almacén predominando *Eurotium*, además de *Rhizopus* y bacterias mesófilas, estos últimos, considerados microorganismos de deterioro avanzado, por lo cual se considera importante cuidar el manejo postcosecha de este grano.

En el grano de girasol destinado a consumo animal a granel se encontró un alto porcentaje del género *Rhizopus* en el 100% de las muestras. Se aislaron e identificaron una gran diversidad de especies de hongos de almacén, algunas de ellas potencialmente toxígenas, lo que nos indica un mal manejo postcosecha.

La alta incidencia de hongos y bacterias mesófilas en la mayoría de las muestras analizadas se debe al alto contenido de aceites y agua en el grano de girasol, lo cual indica que, si este grano no fue adecuadamente almacenado, algunas especies identificadas pueden generar calentamiento y fermentación del grano, deteriorando su calidad.

Se realizó un catálogo de imágenes de las veinte especies de hongos más frecuentes, asociados a los granos de girasol para consumo humano y animal en México, coadyuvando a generar información de los géneros y especies más frecuentes en este grano en nuestro país.

Con respecto al análisis de aflatoxinas totales, resultaron 6 muestras positivas para consumo humano y una para consumo animal, estando por debajo de los límites máximos permitidos de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana y Comunidad Europea, sin embargo queda una apertura para el análisis de otro tipo de toxinas producidas por especies de hongos aislados en el presente trabajo, potencialmente dañinas para la salud humana y animal, ya que estas pueden ser carcinogénicas, mutagénicas, teratogénicas, citotóxicas y estrogénicas.

RECOMENDACIONES

Es importante realizar nuevos estudios sobre la microbiota y la determinación de aflatoxinas en grano de girasol en diferentes regiones de la República Mexicana.

Debido a la presencia de hongos micotoxígenos obtenidos en este trabajo, se recomienda analizar otras micotoxinas producidas por especies de *Alternaria*, *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium*, en el grano de girasol.

Se considera necesario dar a conocer estos resultados en la industria agroalimentaria para reducir riesgos y pérdidas postcosecha.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

1. Abarca, M. L., Bragulat, M., Castellá, G., Accensi, F. y Cabañes, F. J. (2000). Hongos productores de micotoxinas emergentes. Departament Patologia i Producció Animals (Microbiologia). Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España. Vol 17: S63-S68pp.
2. Abrunhosa, L., Morales, H., Soares, C., Calado, T., Vila-Cha, AS., Pereira, M. y Venancio, A. (2012). Institute for Biotechnology and Bioengineering. Centre of Biological Engineering, University of Minho, Portugal. Vol 2: 5-31 pp. <http://biociencias.uan.edu.mx/publicaciones/03-01/biociencias3-1-1.pdf>
3. Asociación Argentina de Girasol (2017). (ASAGIR) Importancia económica del grano de girasol. Disponible en: <http://www.asagir.org.ar/asagir2008/importancia-economica.asp>. [Fecha de consulta 27 de enero de 2017].1p
4. Asociación Argentina de Girasol (2015). (ASAGIR) Por qué los productores del centro y el oeste de Buenos Aires volvieron al girasol. Disponible en: <http://www.asagir.org.ar/asagir2008/> [Fecha de consulta 27 de enero de 2016]. 1p.
5. Avelar, J., Galindo, M., Herrera, A., Llamas, J., Luna, M., Salas-M. y Cabral, M. (2011). Hongos asociados con la enfermedad "miada de perro" en el cultivo de chile. Unidad Académica Agronomía. Universidad Autónoma de Zacatecas. vol.2: 1p.
6. Barnett, H.L. y Hunter, B.B. (1998). Illustred genera of Imperfecti Fungi. 4ta edición. APS PRESS The American Phytopathological Society St. Paul. Minnesota. 216 p.
7. Bello, A. (2014). Aflatoxinas y ocratoxinas totales en maíz (*Zea mays* L.) para autoconsumo: prácticas de preparación y almacenamiento del grano asociadas a la prevalencia de contaminación. Dirección Nacional de Investigación y Proyección social Área: salud. [PDF]10p. Disponible en: <http://www.unab.edu.sv/wpcontent/uploads/2016/12/INVESTIGACION/INFORM>

- [E%20AFLATOXINAS%20Y%20OCRATOXINAS%20MAZ-2014.pdf](#). [Fecha de consulta: 11 de mayo 2015].
8. Benítez, E. (2003) Estudio de especies micotoxígenas del género *Penicillium*, *Penicillium verrucosum* Dierckx. Universidad Autónoma de Barcelona. España. Tesis de Doctorado. 288p.
 9. Bennett, J. and Klich, M. (2003). Mycotoxins. Clin. Microbiol- Vol.16: 497-516 p.
 10. Borrel, J. y Gimeno, G. (2003). Micotoxinas en los alimentos: medidas de prevención y detoxificación. Selecciones Avícolas. Dirección de los autores: BIOVET, S.A. 567-571 p.
 11. Bhat, R. V. and Vasanthi, S. (1999). Mycotoxin contamination of foods and feeds. An overview. Third Joint FAO/WHO/UNEP International Conference on Mycotoxins. Tunes. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/myco4a.pdf>. [Fecha de consulta 12 de enero de 2017].
 12. Blount, W.P. (1961). Turkey "X" disease. Turkeys. Vol 9: 55-58 p.
 13. Carrillo, L. (2003). Mohos y micotoxinas. En Los hongos de los forrajes y alimentos. Universidad Nacional de Jujuy. 1-24 p.
 14. Centro de Investigación Regional del Pacífico (CIRPAC). (2015). Girasol *Helianthus annuus* L. Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo rural Pesca y Alimentación. 95 p.
 15. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (CONABIO). (2017). Girasol (*Helianthus annuus*). Disponible en: <http://bios.conabio.gob.mx/especies/6043526> [Fecha de consulta: 15 de febrero de 2017].
 16. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (CONABIO). (2009). Girasol (*Helianthus annuus*). Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexicolasteraceae/helianthus-annus/fichas/ficha.htm> [Fecha de consulta: 15 de febrero de 2017].
 17. Curvetto, N., González, R., Figlas, D. y Delmastro S. (2005). Cáscara de semilla de girasol. En manual del cultivador de hongos. Universidad Nacional del Sur, Argentina: Mush World. 104-109 p.

18. Dawar, S. y Ghaffar, A. (1991). Detection of aflatoxin in sunflower seed. Departamento of Botany. Pakistan: University of Karachi-75270. Vol 23(1): 123-126 p.
19. Del Valle, L. (1987). *El cultivo moderno del girasol*. Barcelona: Editorial De Vecchi, S.A. 126 p.
20. Dijksterhuis, J. y Samson, R. (2007). *Food mycology, a multifaceted approach to fungi and food*. USA: CRC Press. 208 p.
21. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT. (2015). Base de datos. Disponible en: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E> [Fecha de consulta: 23 de septiembre de 2016].
22. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT. (2016). Base de datos. Disponible en: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E> [Fecha de consulta: 24 de septiembre de 2016].
23. Food and Agriculture Organization (FAO). (2003). Manual sobre la aplicación del sistema de análisis de peligros y de puntos críticos de control (APPCC) en la prevención y control de las Micotoxinas. [En línea]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/005/y1390s/y1390s00.htm#Contents> [Fecha de consulta 10 de enero 2017].
24. Food and Agriculture Organization (FAO). (2014). Importancia económica del grano de girasol. [en línea]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/008/y9492s/y9492s06.htm> [Fecha de consulta 23 de diciembre 2016].
25. Food and Agriculture Organization (FAO). (2004). Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003. [en línea]. Disponible en: <ftp://fao.org/docrep/fao/00/y5499s/y5499s00.pdf>. [Fecha de consulta 23 de diciembre 2016].
26. Food and Drug Administration (FDA). (2001). Guidance for industry: fumonisin levels in human foods and animal feeds; Final guidance. [en línea]. Disponible en: <http://www.fda.gov/food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceD>

- [ocuments/ChemicalContaminantsandPesticides/ucm109231.htm.](#) [Fecha de consulta 23 de diciembre 2016].
27. Food and Drug Administration (FDA). (2004).
 28. Fundación española para el desarrollo de la nutrición animal (FEDNA). (2017). Semilla de girasol, 1 p.
 29. García, G. (1989). Manual de métodos para el análisis de micotoxinas. Disponible en: https://books.Google.com.mx/books?id=vXd6IUkiuvMC&pg=PT44&dq=penicillium+toxinas&hl=es-419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=penicillium%20toxinas&f=false [Fecha de consulta 25 de marzo 2017]. 113 p.
 30. Gallego, L. (2005). Micotoxinas. Disponible en: <http://www.analizacalidad.com/micotoxinas.htm>. [Fecha de consulta 25 de enero 2017]. 1 p.
 31. Gallo, A., Giuberti, G., Frisvad, J., Bertuzzi T. y Nielsen, K. (2015). Review on mycotoxin issues in ruminants: Occurrence in forages, effects of mycotoxin ingestion on health status and animal performance and practical strategies to counteract their negative effects. In *Toxins*, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et d'Ecologie Microbienne, ESIAB, Technopôle Brest-Iroise, Italia: MDPI. 3057-3111 p.
 32. Guerrero, M., López., Bellido, J. y Martínez, M. (1977). *El girasol*. Madrid: Ediciones. Mundi Prensa. 379 p.
 33. Gimeno, A. y Martins, M. (2011). *Micotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos*. 3ª Edición. USA: Special Nutrients Inc. 130 p.
 34. Goto, T., Wicklow, D. e Ito, Y. (1996). Aflatoxin and cyclopiazonic acid production by a sclerotium- producing *Aspergillus tamaris* strain. *Appl- Environ. Microbiol.* Vol. 62: 4036-4038 p.
 35. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). (2012). Eficiencia de cosecha de girasol con agregado de valor de origen. [PDF]. Argentina. 24 p. disponible en: <file:///C:/Users/pati2/Desktop/tesis/PDF/CosechaDeGirasolConVAO2012.pdf> [Fecha de consulta: 11 de noviembre de 2016].

36. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). (2014). Enfermedades del girasol. [En línea]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/RolandR7/enfermedades-del-girasol> [Fecha de consulta: 1 de junio de 2017].
37. Klich, M. (2002). *Indentification of common Aspergillus species*, CBS, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands. 116 p.
38. Klich, M. (2009). Health effects of *Aspergillus* in food and air. [PDF].10p. <airfile:///C:/Users/pati2/Downloads/Review%20Maren%20Klich.pdf>. [Fecha de consulta: 13 de abril 2013].
39. León, AM. (2013). Estudio de la capacidad de los microorganismos del Kefir, para inhibir el desarrollo fúngico y para secuestrar toxinas. Tesis Doctoral. Argentina. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Exactas. 233 p.
40. López, A. (2010). Especie, fúngicas micotoxigénicas en productos cárnicos. Embutidos secos. Tesis de licenciatura. Balzarce Argentina. Universidad Pública de Navarra.82p.
41. López-García, R. and Park, D.L. (1998). Effectiveness of postharvest procedures in management of mycotoxin hazards. Sinha, K.K. and Bhatnagar D. Mycotoxins in agriculture and food safety. Marcel Dekker, In. New York. 407-433 p.
42. Luro, P. (1982). Cultivo de girasol, análisis de costos y evaluación económica para una hectárea. Argentina. Convenio IICA Corpo. Rio Colorado. Tomo VIII. 36 p.
43. Maciel, G. et al., 2015. Effect of oil content of sunflower seeds on the equilibrium moisture relationship and the safe storage condition. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 17(2), pp.248–258. Available at: <http://www.cigrjournal.org>.
44. Martínez MM, Vargas del Río LM, Gómez VM. (2013). Aflatoxinas: incidencia, impactos en la salud, control y prevención. Biosalud. Colombia. Vol. 12(2): 89-109 p.
45. Méndez, L. (2017). Mucormicosis. Unidad de Investigación Médica, Hospital de Especialidades C.M.N. Siglo XX. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/mucormicosis.html>

46. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. (MAPAMA). (2013). Pipas de girasol, Sunflower seeds *Helianthus annus* L. Disponible en: http://www.mapama.gob.es/es/ministerio/servicios/informacion/pipa-girasol_tcm7-315326 [Fecha de consulta: 25 de febrero de 2017].
47. Moreno, M. E. (1988). *Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados*. México: Universidad Nacional Autónoma de México. 109 p.
48. Muñoz, M. (2008). *Determinación de hongos en grano de cebada maltera (*Hordeum vulgare* L.) y presencia natural de micotoxinas*. Tesis de Licenciatura. Cuautitlán Izcalli, México: Universidad Nacional Autónoma de México. 95 p.
49. Nahar, S., Mushtaq, M. y Hashmi, M. (2005). Seed-borne microflora of sunflower (*Helianthus annus* L.), Central Plant Quarantine Laboratory (CPQL), Department of Plant Protection, Ministry of food, Agriculture and Livestock, Govt. Pakistan. Vol. 32(2): 451-457.
50. Navarro and Noyes, (2001). The Mechanics and physics of modern grain aeration monogementi. airflow distribution in beds of grain. Boca Raton, FL: CRC Pres. 585-624 p.
51. NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba. Secretaria de Gobernación (SEGOB). [En línea] Disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5100356&fecha=27/07/2009 [Fecha de consulta: 12 de febrero de 2017].
52. Ortégón, A. (1993). *Estimación de la etapa de madurez fisiológica del cultivo de girasol*. Resultados y avances. INIFAP CIPRAC, Tamaulipas, 1987 p.
53. Paterson, R. and Lima, N. (2010). How will climate change affect mycotoxins in food? Food. Res. Vol. 43: 1902-1914 p.
54. Pavón-Moreno, M. Á., González Alonso, I., Martín de Santos, R., García Lacarra, T. (2012). Importancia del género *Alternaria* como productor de micotoxinas y

- agente causal de enfermedades humanas. *Nutrición Hospitalaria*. Grupo Aula Médica Madrid, España. Vol. 27, núm. 6 pp. 1772-1781.
55. Pitt, J. (1979). *The genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces*, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organizati Division of Food Research, North Ryde. USA: AP, Academic Press. 403 p.
56. Pitt, J. (2000). Toxigenic fungi and mycotoxins. *Br.Med.* Vol. 56: 184-192 p.
57. Pitt, J. and Hocking, A. (2009). *Fungi and Food Spoilage*. Third edition. USA: Springer. 519p.
58. Pitt, J. and Hocking, A. (2006) Mycotoxins in Australia: biocontrol of aflatoxins in peanuts. *Mycopathología*. Vol 162. 233-243 p.
59. Ramírez, M.V. and Hernández, C. (2015). Plant- derived natural products from the American Continent for the control of phytopathogenic fungi: a review. Oaxaca México: Instituto de Recurso, Universidad del Mar, Puerto Ángel Oaxaca. Vol 3 (4): 96-118 p.
60. Ramos, J. (2011). Micotoxinas y micotoxicosis. Universidad de Lleida España: 486 p.
61. Robles, R. (1982). *Producción de oleaginosas y textiles*. México: Limusa. 675p.
62. Reglamento (EU) No 165/2010 De La Comisión de 26 de febrero de 2010 que modifica, en lo que respecta a las aflatoxinas, el Reglamento (CE) no 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. [En línea]. Disponible en: http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=uriserv:OJ.L_.2010.050.01.0008.01.SPA [Fecha de consulta: 12 de febrero de 2017].
63. Rebuffel, P. (1988). Desarrollo de hongos en los granos. Seminario de postcosecha de granos en la zona Sur. [PDF]. Disponible en: <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/seriesinia/NR06360.pdf>. [Fecha de consulta: 12 de septiembre del 2016].
64. Samson, R. and Frisvad, J. (2004). *Penicillium: new taxonomic schemes and mycotoxins and other extrolites*, CBS, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands. 257 p.

65. Samsom, R. and Pitt, J. (1989). Modern concepts in *Penicillium* and *Aspergillus* classification. Springer Science-Business Media, LCC. Vol. 185: 106-169.
66. Sánchez, A. (1985). *Manual para la educación agropecuaria cultivos oleaginosos*. México: Editorial Trillas. 72 p.
67. Sánchez, L. y López L. (2010). Consumo de fumonisinas y daños a la salud humana. Méx Cuernavaca. Vol. 52 no.5: 1 p.
68. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (SAGARPA). (2017). Almacenamiento y conservación de granos y semillas. Subsecretaría de Desarrollo Rural. Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural. [PDF] México.7p. Disponible en: <file:///C:/Users/pati2/Desktop/tesis/Almacenamiento%20de%20semillas.pdf> [Fecha de consulta: 16 octubre de 2016].
69. Serrano, H. A. y Castro, N. (2015). Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. Mycotoxicosis and mycotoxins: generalities and basic aspects. Vol: 29(1): 143-152.
70. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2016). Base de datos. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Disponible en <http://www.siap.gob.mx/siembras-cosechas/> [Fecha de consulta: 15 de Julio de 2016].
71. Simmons, E. (2007). *Alternaria* an identification manual. Fully illustred and whith catalogue raisonné 1796-2007. CBS Fungal Biodiversity Centre Utrecht, the Netherlands an Instituteof the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences. 775 p.
72. Soriano, J.M. (2007). Micotoxinas en alimentos. España. Diaz de Santos. 395 p.
73. Smith, C., Madec, S., Coton, E. y Hymery N. (2016). Natural Co-Occurrence of Mycotoxins in Foods and Feeds and Theirs In vitro Combined Toxicological Effects. En Toxins, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et d'Ecologie Microbienne, ESIAB, Technopôle Brest-Iroise. Fancia: MDPI. 1-36pp.
74. Suslov, V.M (1977). Helia. The potential of wild sunflower species for industrial uses. The Gruyter. 10p.

75. Syngenta (2014). Manual de tecnologías. Enfermedades foliares de Fin de Ciclo (EFC) en el cultivo de girasol. [En línea]. Disponible en: http://www.syngentaenvivo.com.ar/2014/manual/files/girasol_enfermedades.htm. [Fecha de consulta: 1 de junio del 2017].
76. Tangarife V. (2011). *Rhizophus* spp. Programa Internacional de Tecnología a la Docencia. Universidad de Antioquia. Disponible en: <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/mod/page/view.php?id=100895> [Fecha de consulta: 23 de mayo 2016].
77. Universidad Nacional de Cuto. (UNCUYO). (2011). Estados fenológicos del girasol. Ingeniería Agronómica. Argentina. 17 p.
78. Viorel, A. (1977). *El girasol*. España: Ediciones Mundi Prensa. 364p

ANEXO A

Descripción de las características macromorfológicas y micromorfológicas de las especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, estos hongos pertenecen a los ascomicetos anamórficos, los cuales se caracterizan por formar un micelio septado. Se reproducen asexualmente formando conidios y asexualmente formando cleistotecios con ascas y ascosporas. Corresponden a la clase Eurotiomycetes.

Las especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, son muy abundantes y presentan una distribución geográfica muy grande. Comúnmente se desarrollan en granos, semillas y alimentos para humanos y animales domésticos, causando descomposición y a veces algunas especies son toxígenas, potencialmente productoras de diversas micotoxinas, ocasionando algunos trastornos en la salud a los consumidores

Características macromorfológicas de *Aspergillus candidus*

Medio de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Esclerocios	Producción de exudados	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la colonia
<u>CYA 25</u>	(13) 15-28	De color blanco y denso	Algunas veces se forman esclerocios, inicialmente es rosado opaco a púrpura, con el tiempo se convierte en negro	Presentes hialinos o amarillos	Hialino, ligeramente amarillo anaranjado	Densa, granular, velutinosa o lanosa plana o radialmente sulcada. Cabezas conidiales blancas o amarillo pálido
<u>MEA</u>	14-23 (26)	Inconspicuo, blanco o ligeramente amarillo	No presenta		Usualmente amarillento, ocasionalmente café opaco	Escasa y granular. Cabezas conidiales blancas o amarillo pálido
<u>CY20S</u>	(14)19-33	De color blanco y denso	Algunas veces se forman esclerocios, inicialmente es rosado opaco a púrpura, con el tiempo se convierte en negro	Presentes hialinos o amarillos	Usualmente amarillento, ocasionalmente café opaco	La textura frecuentemente es más granular que en CYA25. Cabezas conidiales blancas o amarillo pálido
<u>CYA 37</u>	0-25	Blanco y denso	No presenta		Usualmente amarillento, ocasionalmente café opaco, aunque no se puede definir bien la coloración por el tamaño de la colonia	Velutinosas y sulcadas. Cabezas conidiales blancas o amarillo pálido
<u>CZ</u>	(13) 15-28	Similar a CYA 25			Incoloro, ligeramente amarillo anaranjado	Densa, granular, velutinosa o lanosa plana o radialmente sulcada
Características micromorfológicas						
Las cabezas conidiales radiales; conidióforos (100) 200-500 (750) * 4-10 (12) μm , paredes lisas a finamente rugosas, sin coloración; vesículas (12) 17-35 (45) μm de ancho; globosa o algo alargada; predominantemente biseriadas, a menudo uniseriadas; métula (5) 7-20 * (3) * 5-8 μm que cubre toda la superficie de la vesícula, fiálides 6-9 (11) * 2-3 μm , a menudo sólo 2-3 fiálides por métula. Conidios globosos a ligeramente ovoides, (2.5) 3-4 (5) μm , paredes lisas.						

Características macromorfológicas de *Aspergillus flavus*

Medio de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Esclerocios	Producción de exudados	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la colonia
<u>CYA 25</u>	(45) 65-70	Áreas blancas	Presentes de color café oscuro a negro, variable en forma y tamaño	Presentes hialinos o de color café	Hialino, café opaco	La textura es variable, lanosa o flocosa. Cabezas conidiales amarillo verdoso a amarillo oliva
<u>MEA</u>	(50) 65-70	Blanco inconspicuo	A veces presenta de color café o negro, variable en forma y tamaño	Presentes hialinos o de color café	Generalmente hialino, a veces en colores amarillos opacos	Flocosas, especialmente en el centro. Cabezas conidiales oliva o verde oscuro
<u>CY20S</u>	65-70	Áreas blancas	Ausente	Ausente	Ocasionalmente es de un color amarillo	La textura es variable, lanosa o flocosa. cabezas conidiales verde amarillo a amarillo oliva
<u>CYA 37</u>	(50) 55-65 (70)	Similar a CYA 25				La textura es variable escasa, lanosa o flocosa. Color oliva a café oliva
<u>CZ</u>	(45) 65-70	Áreas blancas	Presentes de color café oscuro a negro, variable en forma y tamaño	Presentes hialinos o de color café	Hialino, café opaco o anaranjado	La textura es variable, lanosa o flocosa
Características micromorfológicas						
<p>Cabezas conidiales columnares; conidióforos (250) 400- 8000 (2500) * 8-17µm de longitud, paredes generalmente bastante ásperas, ocasionalmente finamente rugosas, hialinas, a veces marrón muy pálido; vesículas esféricas a alargadas (12) 20-45 (85) µm de ancho, variables en seriación, la mayoría de los aislamientos con al menos 20%; Biseriado en CYA 25, algunas por completo son uniseriadas en MEA; métulas cubriendo tres cuartos o toda la superficie de la vesícula, (6) 8-10 (16) * (4) 5-7 (9) µm; fiálides 7-12 * (2.5) 3-4 (5) µm. Conidios globosos a elipsoidales, 3-6 (8) µm, con paredes lisas a finamente rugosa.</p>						

Características macromorfológicas de *Aspergillus niger*

Medio de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Esclerocios	Producción de exudados	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la colonia
<u>CYA 25</u>	55-70	Cuando está presente tiene color crema o beige opaco a rosa pálido. Hifas usualmente inconspicuas	Hialinos cuando están presentes	Hialinos cuando están presentes	Hialinos o amarillo, no se observan pigmentos solubles	Granular o flocosa, a veces radial a sulcada. Cabezas conidiales negras o cafés oscuros abundantes.
<u>MEA</u>	(30)50-70	Color blanco e inconspicuo	No presenta	No presenta	Hialinos	Granular a flocosa. Cabezas conidiales negras
<u>CY20S</u>	68-70	Color blanco e inconspicuo	Cuando están presentes tienen color crema o beige opaco a rosa pálido	Hialinos cuando están presentes	Colores son generalmente intensos	En apariencias es parecida a CYA 25. Cabezas conidiales negras
<u>CYA 37</u>	50-70	Color blanco e inconspicuo	No presenta	No presenta	Hialinos	Granular a flocosa. Cabezas conidiales negras
<u>CZ</u>	40-62	Color blanco e inconspicuo	No presenta	Presenta	Hialinos	Granular o flocosa, a veces radial a sulcada. Cabezas conidiales de color negro

Características micromorfológicas

Las **cabezas conidiales** radiadas; **conidióforo** (300) 400- 3000 * (7) 12-17 (20) µm, paredes gruesas, lisas, hialinas a amarillentas o ligeramente marrones, especialmente cerca de los ápices; **vesículas** (20) 30-70 (85) µm de ancho, casi esféricas; biseriadas (muy raramente uniseriadas); **métulas** cubriendo prácticamente toda la superficie de la vesícula, midiendo 12-20 (40) * 3-6 µm, a veces con un solo tabique; **fiálides** 7-10 * 3-4µm. Conidios globosos, (3) 3,5-4,5 (5) µm de diámetro, generalmente muy rugosos con crestas y surcos irregulares, ocasionalmente finamente rugosos.

Características macromorfológicas de *Aspergillus ochraceus*

Medio de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Esclerocios	Producción de exudados	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la colonia
<u>CYA 25</u>	39-59	Blanco, avellana, inconspicuo, flocoso	Cuando están presentes, son rosa opaco a púrpura	Se forman algunas veces son hialinos, amarillos o rojo opaco	Amarillo opaco, rojo grisáceo o café. Cuando forman pigmentos solubles son del mismo color al reverso de la colonia	Puede variar ligeramente entre flocosa y plana a bastante baja y sulcada
<u>MEA</u>	44-55 (57)	Color blanco, inconspicuo flocoso	Similar a CYA 25		De color amarillo, anaranjado pálido a grisáceo con sombras color oro	No presentan esporulación abundante, variables en apariencia.
<u>CY20S</u>	44-70	Similar a CYA 25			Usualmente presenta sombras de color café que lo diferencia de CY25	Similar a CYA 25
<u>CYA 37</u>	0-35	Similar a CYA 25				Densa y plegada
<u>CZ</u>	22.42	Similar a CYA 25			No presenta pigmentos solubles	

Características micromorfológicas

Las **cabezas conidiales** radiales; **conidióforos** (100) 300-1700µm, paredes ligeramente rugosas, incoloras a amarillentas o de color marrón claro en los ápices; **vesículas** globosas o alargadas (12) 25 - 55 (80) µm; biseriado con **métulas** apretadas sobre toda la vesícula, midiendo (5) 6-12 (30) * 2-6 µm; **fiálides** 7-12 (14) * 2-3 µm- Conidios (2) 2.5-3.5 (4.5) µm, lisos a finamente rugosos, esféricos a ampliamente elipsoidales, ocasionalmente apiculados.

Características macromorfológicas de *Aspergillus parasiticus*

Medio de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Esclerocios	Producción de exudados	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la colonia
<u>CYA 25</u>	(50) 60-70	Blanco usualmente inconspicuo	Ocasionalmente se forman de color café o negro	Hialinos cuando se presentan	Hialinos, rojo, rosado opaco o amarillo opaco, algunas veces café	Bastante profundas, velutinosas, en algunos aislamientos son flocosas. Cabezas conidiales olivo oscuro
<u>MEA</u>	(45) 60-70	Usualmente inconspicuo, ocasionalmente tiene mechones flocosos cafés o negros	Ocasionalmente se forman	Hialinos cuando se presentan	Hialinos, amarillo opaco a manchones verdes opacos	Flocosa y no densa. Cabezas conidiales olivo verde obscuro
<u>CY20S</u>	60-70	Similar a CYA 25			Es de color amarillo, naranja o incluso tonos entre verdes y grises	Ligeramente más verdes-amarillas que en CYA 25
<u>CYA 37</u>	(40) 50-70	Similar a CYA 25		Ausentes lo que lo diferencia de CYA 25	Algunas veces forma pigmentos solubles de color amarillo o cafés	Similar a CYA 25
<u>CZ</u>	45-65	Similar a CYA 25				Tienden a ser más velutinosas que en CYA 25

Características micromorfológicas

Las **cabezas conidiales** generalmente son radiadas; **conidióforos** (100) 250- 500 (1100) μm , paredes finamente rugosas a muy rugosas, incoloras; **vesículas** (10) 20-35 (40) μm de ancho, esféricas o ligeramente alargadas; Predominantemente uniseriados, hasta 20% biseriados en algunos aislamientos; **métulas**, si está presente, 7-10 (14) * 3-7 μm ; **fiálides** (7) 8-11 * 3-5 (7) μm , métulas o fiálides cubren al menos la mitad de la vesícula. Conidios globosos, 3,5 - 6 (7) μm de diámetro, de paredes claramente rugosas.

Características macromorfológicas de *Aspergillus tamarii*

Medio de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Esclerocios	Producción de exudados	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la colonia
<u>CYA 25</u>	(45) 55-70	Blanco		No presenta	Hialino o amarillo grisáceo	Profundas, radialmente sulcada, flocosa y plana. Cabezas conidiales café oliva, marrón o amarillo
<u>MEA</u>	(55) 65-70	Blanco e inconspicuo		No presenta	Hialino a ligeramente amarillo	Textura áspera
<u>CY20S</u>	60-70			Similar a CYA 25		
<u>CYA 37</u>	40.70			Similar a CYA 25		
<u>CZ</u>	54-70			Similar a CYA 25		En el reverso de la colonia es incolora a café pálido
Características micromorfológicas						
Las cabezas conidiales radiadas o se dividen en columnas; conidióforos (300) 600-150 (2600) * 12-20 µm, de paredes rugosas, incoloro; vesículas globosas a piriformes, (15) 20-45 (75) µm de ancho; uniseriadas y biseriadas presentes en la mayoría de los aislamientos; métula / fiálides cubriendo generalmente toda la superficie de la vesícula, métula 8-13 (20) * 4-8 (9) µm; fiálides (7) 9-15 * 4-6. Conidios globosos, ásperos con paredes muy gruesas, (3) 5.5-8 (13) µm de diámetro.						

Características macromorfológicas de *Aspergillus versicolor*

Medio de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Esclerocios	Producción de exudados	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la colonia
<u>CYA 25</u>	15-25 (26)	Blanco, rosa opaco, naranja	No presenta	Hialinos a café rojizo	Hialinos o tonos de marrón a rojo púrpura.	La textura es generalmente velutinosa, a menudo radialmente sulcada.
<u>MEA</u>	12-26	Blanco a rosas carne, a menudo inconspicuo	No presenta	Hialinos a café rojizo	Hialino, café amarillento, café anaranjado a verdoso	Textura velutinosa a granular. Cabezas conidiales verde turquesa a verde grisáceo
<u>CY20S</u>	14-30	Similar a CYA 25		No presenta exudados lo que lo diferencia de CYA 25	Los exudados tienden a ser de color marrón rojizo	Cuando están presentes son pequeñas poca esporulación. Densas y arrugadas
<u>CYA 37</u>	0-10	Similar a CYA 25				
<u>CZ</u>	(10) 15-19 (22)	Similar a CYA 25				
Características micromorfológicas						
<p>Las cabezas conidiales radiales; conidióforo (120) 200-400 * 4-7µm, incoloro a amarillo o ligeramente pardusco, de paredes lisas, piriformes; vesículas (8) 9 - 16 µm de diámetro; biseriado; métula (3) 4-8 * 2.5-3.5 (4) µm cubriendo la mitad de toda la vesícula; fiálides (4) 5-9 (11) * 2-3 µm. Diminutas cabezas conidiales a veces presentes, parecidas a <i>Penicillium</i> Conidios 2,0-3,5 (4,5) µm de diámetro, la mayoría de globosos a subglobosos, con paredes finamente a claramente rugosas.</p>						

Características macromorfológicas *Aspergillus wentii*

Medio de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Esclerocios	Producción de exudados	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la colonia
<u>CYA 25</u>	25-35	Denso de color blanco a amarillo pálido, densas masas de hifas de color blancas a rosadas cuando se forman		Cuando están presentes son hialinos a amarillo marrón	Incoloro a amarillo o café pálido	Textura variable, velutinosa a flocosa, plana o radialmente sulcada. Cabezas conidiales amarillo grisáceo
<u>MEA</u>	(20) 25-35 (40)	Es de color blanco a veces forma una densa masa de hifas de color blanco a rosado	No presenta		Hialinos a amarillo opaco o café opaco	Textura es generalmente profunda a flocosa, ocasionalmente velutinosa
<u>CY20S</u>	5-70	Denso, blanco a amarillo pálido	No presenta		Hialinos a amarillo pálido o café opaco	Cabezas conidiales amarillo grisáceo escaso
<u>CYA 37</u>	No hay crecimiento de la colonia					
<u>CZ</u>	24-27	Similar a CYA 25				
Características micromorfológicas						
Las cabezas conidiales son radiales, a menudo dividiéndose en columnas con la edad; conidióforos 200-1200 (3000) * 10-12 (16) µm, a menudo sinuoso, generalmente incoloro, paredes lisas o ligeramente verrugosas por debajo; vesículas alargadas a globosas, (7) 30-80 µm de ancho; biseriado; métula llena, 10-18 (23) * (3) 5-8 (10) µm, cubriendo la mayor parte de la superficie vesicular; fiálides 7-10 (15) * 3-5 (6) µm. Conidios globosos a elipsoidales, (3.5) 4-5 µm, superficie lisa a muy áspera.						

Características macromorfológicas de *Eurotium amstelodami*

Medios de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Cleistotecios	Producción de exudados	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la colonia
<u>CYA 25</u>	(10) 14-24 (21)	Blanco, amarillo o amarillo grisáceo	Amarillos	Cuando presenta son hialinas a cafés, cuando presenta pigmentos solubles son de color café	Hialino, amarillo, verde a café	Baja, plana a sulcada. Cabezas conidiales verdes, verde grisáceo, grisáceo turquesa o verde oscuro, café
<u>MEA</u>	(13) 18-22(16)	Inconspicuo blanco o amarillo	Cuando se presentan son amarillos		Hialino o en centro es amarillento	No son densas, bajas y granulares. Cabeza conidial verde oscuro
<u>CY20S</u>	(31) 34-59	Color amarillo	Amarillos		Generalmente amarillo (debajo del cleistotecio) o verde (debajo del conidio)	Cabezas conidiales verde espaco o verde oscuro
<u>CYA 37</u>	2-13				Hialino, o verde grisáceo	Consistente en montículos densos blancos
<u>CZ</u>	7-19		En apariencia domina el color amarillo brillante			Velutinosa

Características micromorfológicas

Las **cabezas conidiales** son radiales columnares; **conidióforos** de paredes lisas, sin color a ligeramente marrón (90) 110-350 (500) * (5) -7-12 µm; **vesículas** globosas a espatuliformes (10) 17-30 (40) µm; uniseriados, **fiálides** 5-8 * 3-4.5µm que cubren por lo menos los dos tercios superiores de la vesícula. **conidios** globosos a subglobosos o elipsoidales, finamente rugosos a densamente equinulados, (3) 4-5 (7) µm de longitud. **cleistotecio** amarillo, globosa a subglobosa, (50) 75-150 (170) µm de diámetro. Pared constituida por una sola capa de células angulares pseudoparenquimatosas. **Las ascosporas** maduran después de dos a tres semanas. **Ascosporas** lenticulares 4.5-6 * 3.5-4µm, incoloras, de paredes ásperas, con un surco longitudinal y una conspicua cresta de altura irregular a cada lado.

Características macromorfológicas de *Eurotium chevalieri*

Medios de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Cleistotecios	Producción de exudados	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la colonia
<u>CYA 25</u>	(16) 18-23 (28)	Es amarillo	Amarillo		Amarillo	Bajas, densas planas a sulcadas
<u>MEA</u>	16-25	De color blanco a amarillo	Amarillo		Color amarillo, café (algunas veces naranjas u olivo)	Baja, velutinosa, granular, o flocosa, plana. Cabezas conidiales de color café a verde grisáceo opaco
<u>CY20S</u>	(40) 45-68	Amarillo	Amarillo		Color amarillo, naranja o café	Densa, plana o sulcada, velutinosa. Cabezas conidiales de color amarillo olivo o café olivo
<u>CYA 37</u>	0-10 (11)	Es blanco o amarillo	No presenta		Es blanco a colores rojizos, presenta pigmentos solubles de color gris, anaranjado- café	Bajas con áreas centrales elevadas
<u>CZ</u>	16-20	Blanco o amarillo	No presenta		Verde opaco a amarillo	Velutinosa a granular. Cabezas conidiales de color olivo opaco o café olivo

Características micromorfológicas

Las **cabezas conidiales** generalmente son radiadas; (17) 25-35 (37) μm de diámetro, uniseriadas (100) 250- 500 (1000) * 7-2 (25) μm , hialinas a ligeramente marrón, paredes lisas, presentando vesículas piriformes, globosas o clavadas; **fiálides** (5) 6-8 (12) * (2) 3-4 (5) μm cubriendo al menos los dos tercios superiores de la superficie de la vesícula. **conidios** (3) 4-5 (7) * 3-4 μm , de forma variable, subesféricos, ovoides e piriformes, superficie muy rugosa y rugosa. **Cleistotecio**, (60) 90-150 (180) μm de diámetro, globosos a subglobosos, amarillos; consistente en una sola capa celular compuesta de pseudotejido pseudoparenquimatoso angular, madurando en una a dos semanas. **ascosporas** lenticulares, 4.5-5.5 (7) * 3.5-4.0 μm , paredes lisas con dos crestas longitudinales prominentes. Estas esporas fueron descritas por Mangin como forma de polea.

Características macromorfológicas de *Eurotium herbariorum*

Medios de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Cleistotecios	Producción de exudados	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la colonia
<u>CYA 25</u>	3-20 (25)	Forma un fieltro amarillo a naranja	Amarillo a naranja	No presenta		Velutinosa a flocosa, plana o arrugada, a menudo con el centro umbonado. Cabezas conidiales de color gris-verde a verde opaco
<u>MEA</u>	0-17 (20)	Color amarillo oro o en ocasiones naranja, el cleistotecio amarillo a oro		No presenta	De la colonia es de color amarillo a oro	Granular. Cabezas conidiales son de color verde grisáceo,
<u>CY20S</u>	(25)30-45 (60)	Color amarillo	Es de color amarillo	No presenta	Es de color amarillo brillante a naranja o café y cuando la colonia ya es vieja es de color negro	Colonias planas a radialmente sulcadas, velutinosa o con una capa flocosa. Cabezas conidiales de color amarillo en el margen y raramente es blanco
<u>CYA 37</u>	No hay crecimiento					
<u>CZ</u>	0-13	Blanco a amarillo brillante oro		No presenta		Bajas, densa, plana. Cabezas conidiales de color verde
Características micromorfológicas						
<p>Se observan mejor en las cabezas conidiales radiales en CY20S; conidióforos hialinos, paredes lisas a rugosas, (200) 300-700 (800) * (8) -9-15 µm, extendiéndose en vesículas subglobosas a piriformes, (12) 18-36 (50) µm de ancho; uniseriados, fiálides 7-11 * 3-7µm, cubriendo la mayor parte de la vesícula. Conidios variables en forma, esférica, elipsoidal o apiculada, (4.5) 5-8 (11) * 5-7µm de longitud. cleistotecio amarillo, globoso a subgloboso, 60-150µm de diámetro; Pared que consta de una sola capa de pseudotejido angular pseudoparenquimatoso, frecuentemente rodeada de hifas incrustadas de color naranja. Las ascosporas maduran a los 14 días, lenticulares, 5-6.5 * 3-5µm, a menudo con una hendidura hasta el surco definido, y una textura superficial lisa.</p>						

Características macromorfológicas de *Penicillium aurantiogriseum*

Medios de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Exudados y pigmentos solubles	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la Colonia
<u>CYA 25 °C</u>	39-45	Blanco, usualmente inconspicuo	Ocasionalmente presentes, pálidos a café claro	Es de color amarillo curri a naranja o café rojizo	Velutinosa a ligeramente fasciculadas. Cabezas conidiales de color azul verdoso a verde grisáceo o verde grisáceo opaco
<u>MEA</u>	25-35	Usualmente subsuperficial de color amarillo brillante	Exudado ausente; pigmento soluble a veces producido, marrón amarillo a marrón rojizo	Pálido, naranja o marrón rojizo	Plano o raramente radialmente sulcado, bajo o algunas veces centralmente umbonado, relativamente escaso. Cabezas conidiales verdes mate, azul-verde glauco
<u>G25N</u>	2-5	Blanco		Color naranja pálido a profundo.	Centralmente flocosa o umbonada
<u>CYA 5° C</u>	2-5	Blanco		Naranja pálido a profundo.	A menudo flocosa o umbonada en el centro
<u>CYA 37 °C</u>	No hay crecimiento				
Características micromorfológicas					
<p>Conidióforos terverticilados pocos biverticilados y tetraverticilados; Conidios 3-4 * 2.5-3.5 y globosos a subglobosos (raramente elipsoidales) con paredes lisas; fiálides 7.5-10 µm*2.5-2.8 µm, cilíndricas; métula 10-13 µm* 2.8-3.5 µm; rama 15.25 µm 3*-3.5; Paredes lisas a finamente rugosas: Esclerocios: no presenta.</p>					

Características macromorfológicas de *Penicillium aurantiogriseum* var. *viridicatum*

Medios de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Exudados y pigmentos solubles	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la Colonia
<u>CYA 25 °C</u>	28-32	Blanco, inconspicuo excepto en los márgenes, en el centro flocoso de color blanco a café opaco	En gotitas claros a amarillos o rosa pálido, algunas veces produce pigmentos solubles de color naranja a café rojizo	Amarillo a café anaranjado	De textura velutinosa a escasamente fasciculada. Penicilo verdoso, usualmente verde cactus
<u>MEA</u>	25-30	Es blanco bajo o café profundo, inconspicuo.	Ausentes	Similar a CYA y en ocasiones amarillo marrón	Plano ocasionalmente radiado a sulcado, profundo, escaso a moderadamente denso, velutinoso, granular o fasciculado o en el centro flocoso. Penicilos moderados de color amarillo verdoso
<u>G25N</u>	20-22	Blanco	Ausentes	Pálido, amarillo o naranja	Plano, radialmente sulcado, denso, superficie granular, márgenes bajos a profundos. Penicilos moderados de color azul, gris, amarillo verde o café
<u>CYA 5° C</u>	Las colonias que se forman miden 2-mm de diámetro				Plano o al final radialmente sulcado, denso, superficie granular, márgenes bajos a profundos
Características micromorfológicas					
<p>Conidióforos con paredes rugosas de 200-450 μm*3-4 μm: terverticilados a partir de hifas aéreas; Conidios con paredes finamente rugosas, globosas a subglobosas, 2.6-3.4 μm; fiálides en forma de matraces, 7.9 *2.2-2.8 μm; métula cilíndrica, 15-25 μm*3.2-4.2 μm.</p>					

Características macromorfológicas de *Penicillium citrinum*

Medios de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Exudados y pigmentos solubles	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la Colonia
<u>CYA 25 °C</u>	25	Blanco en áreas periféricas, en los centros blancos a naranja grisáceo o albaricoque	Exudado claro, amarillo pálido o pardo a marrón rojizo, típicamente abundante sobre la mitad central de la colonia y raramente está ausente; Pigmento soluble amarillo brillante o ausente	Amarillo o amarillo marrón, marrón rojizo u ocasionalmente oliva.	Radialmente sulcadas, zonas marginales velutinosas, centralmente flocosas; márgenes bajos, estrechos. Penicilios de color turquesa gris a gris turquesa o azul celeste
<u>MEA</u>	14-18 (22)	Blanco a grisáceo; Márgenes muy estrechos y típicamente irregulares	Ausentes	Marrón claro a marrón oscuro	Plano o radialmente sulcado, moderadamente profundas y densas, ocasionalmente muy profundas y flocosas. Penicilios de color azul gris en los márgenes, en el centro verde opaca
<u>G25N</u>	13-18	Micelio blanco	Ausentes	Pálido, marrón opaco, marrón amarillo en ocasiones oliva	Sulcada radialmente y umbonada en el centro, velutinoso o flocoso en algunas ocasiones en el centro; márgenes bajos, estrechos. Penicilios verde mate o casi verdosa
<u>CYA 5° C</u>	No hay crecimiento				
<u>CYA 37 °C</u>	0-10	Producen sólo micelio blanco			Comúnmente no hay crecimiento
Características micromorfológicas					
<p>Conidióforos procedentes de hifas profundas o superficiales de 100-300 * 2.2-3.0µm, con paredes lisas, que terminan característicamente en verticilos bien definidos de 3-5 métulas divergentes, llevadas ocasionalmente con ramas divergentes, con métulas subterminales o intercalares producidas en algunos aislamientos; métula usualmente de longitud uniforme, 12-15 (-20) * 2.2-3.0 µm, comúnmente espatuladas o vesiculadas, hasta 5 µm de diámetro; fiálides en compactos con verticilos de 8-12, ampuliformes, 7-8 (-12)* 2.2-2.5 µm de diámetro; conidios esferoidales a subesferoidales, 2,2-3,0 µm de diámetro, con paredes lisas o muy rugosas, típicamente formando largas columnas bien definidas.</p>					

Características macromorfológicas *Penicillium commune*

Medios de cultivo	Micelio	Exudados y pigmentos solubles	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la Colonia
<u>CYA 25 °C</u>	Blanco	Hialinos a marrón opaco	Generalmente pálido, amarillo, marrón o purpura	Tamaño medio, textura velutinoso a flocosa, de color verde azulado a verde opaco
<u>MEA</u>	Blanco	Hialinos a café pálido	Usualmente pálido, ocasionalmente amarillo, café o morado	Color verde opaco
Características micromorfológicas				
<p>Conidióforos finamente rugosos en CYA y MEA, terverticilados; Conidios esféricos a subesferoidales, de paredes lisas. <i>P. commune</i> se asemeja a <i>P. aurantiogriseum</i>: se distingue por colores consistentemente verdes de conidios sobre MEA, y con conidióforos finamente rugosos.</p>				

Características macromorfológicas de *Penicillium chrysogenum*

Medios de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Exudados y pigmentos solubles	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la Colonia
<u>CYA 25 °C</u>	35-45	Márgenes de color blanco y en el centro blanco a amarillento, blanco o naranja	A menudo presentes son abundantes y de color amarillo	Es de color crema, amarillo y en ocasiones café	Textura es flocosa a velutinosa. Penicilos escasos a moderados, de color verde turquesa a verde opaco
<u>MEA</u>	25-35	Escaso, blanco en el centro pálido naranja o piel	Exudado y pigmento soluble ausente	Pálido, amarillento, marrón amarillo o marrón rojizo.	Comúnmente, planas y en menor proporción radialmente sulcadas o centralmente umbonadas. Penicilos escasos a moderados de color turquesa grisáceos, verde opaco, pistache o verde grisáceo
<u>G25N</u>	20-22	Blanco	Ausente	Pálido a amarillo brillante, marrón o marrón rojizo	Radialmente sulcado, denso con un crecimiento excesivo flocoso. Penicilos turquesa, verde grisáceo opaco o pistache
<u>CYA 5° C</u>	4			No se observa	
<u>CYA 37 °C</u>	5			No se observa	
Características micromorfológicas					
<p>Conidióforos biverticilados, terverticilados y tetraverticilados, todos presentes de 200-300 µm*3-4 µm, ramas divergentes formadas de hifas aéreas y superficiales.; Conidios de paredes lisas, globosas a subglobosas o elipsoidales, 2.5-4 µm*2.3-3.5 µm; fiálides cilíndricas, 7-9 µm*2.3-2.5 µm: métula cilíndrica 8-12 µm*2.5-4.0 µm; rama cilíndrica de 15-20 µm*3-4 µm.</p>					

Características macromorfológicas de *Penicillium crustosum*

Medios de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Exudados y pigmentos solubles	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la Colonia
<u>CYA 25 °C</u>	35-40	Inconspicuo y blanco	Hialinas y cafés	Pigmentos de color crema, amarillo marrón	La textura de la colonia es velutinosa a ligeramente fasciculada, convirtiéndose en crustosa. Penicilos verde opaco, verde pistache o ligeramente grises
<u>MEA</u>	25-40	Desarrollo profundo en la mayoría de los aislamientos	Ausentes	Pálido a amarillo marrón	Baja a velutinosa, algunas veces con crestas rudimentarias en el coremio, ocasionalmente el centro es flocoso; los márgenes en la superficie son bajos, algunas veces irregulares
<u>G25N</u>	20-24	Blanco	Exudados ausentes; pigmentos solubles amarillos a cafés cuando se producen	Amarillo marrón	Profunda, velutinosa, algunas veces con crestas rudimentarias en el coremio, ocasionalmente el centro es flocoso los márgenes en la superficie son bajos, algunas veces irregulares. Penicilos verde grisáceo a verde opaco, verde pistache
<u>CYA 5° C</u>	2-6	Blanco, algunas veces abundante y en el centro umbonado			
<u>CYA 37 °C</u>	No hay crecimiento				
Características micromorfológicas					
<p>Conidióforos terverticilados, hifas superficiales; conidios de pared lisa, globosos a subglobosos rara vez elipsoidales 3.5-4.5 µm fiálides cilíndricas cónicas en posición de columpio, 9-12 µm*2.5-3 µm; métula cilíndrica 10-a5 µm*3.4 µm. rama cilíndrica, 15-25 µm*3-4 µm; esclerocios: ausentes.</p>					

Características macromorfológicas de *Penicillium echinulatum*

Medios de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Exudados y pigmentos solubles	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la Colonia
<u>CYA 25 °C</u>	32-38	Color blanco. Inconspicuo	Exudados de color amarillo claro a café claro Pigmentos solubles ausentes	De color café anaranjado	Profundamente plegada, moderadamente profundo, textura granular El margen y centro de color café opaco. Penicilos abundantes de color verde opaco a verde oscuro
<u>MEA</u>	27-37	Inconspicuo	Ausentes	Amarillo marrón a café anaranjado	Plana o en el centro umbonada. Penicilos formados en fascículos, de color verde oscuro
<u>G25N</u>	20-22	Blanco	Ausentes	Amarillo o café	Moderadamente sulcada, profunda y densa. textura velutinosa a granular. Penicilos ligeramente moderados, color similar a CYA 25
<u>CYA 5° C</u>	4-6	Blanco			Centro flocoso a umbonado
<u>CYA 37 °C</u>	No hay crecimiento				
Características micromorfológicas					
<p>Conidióforos de paredes gruesas; terverticilados de 250-500 µm*3.5-4.2 µm;, elementos apretados, hifas superficiales; conidios presentan paredes rugosas de forma globosa a subglobosa, 3.5-4.5 µm; fiálides cilíndricas de 9-11 µm*2.5-3.0 µm; métula cilíndrica, 11-15 µm*3-3.5 µm; ramas cilíndricas, 12-20 µm*3.5-4.2 µm; esclerocios ausentes.</p>					

Características macromorfológicas de *Penicillium expansum*

Medios de cultivo	Diámetro de la colonia (mm)	Micelio	Exudados y pigmentos solubles	Reverso de la colonia	Anverso y aspecto de la Colonia
<u>CYA 25 °C</u>	30-40 (50)	Blanco	Típicamente están presentes, los exudados son de color claro a naranja pálido-café, pigmentos solubles naranja pardusco, cercano al caramelo por encima	Naranja pardusco	Sulcada radialmente, crecimiento moderadamente profundo. Coremios en una o más bandas anulares con áreas velutinosas a flocosas. Penicilos de color verde opaco a verde pistache
<u>MEA</u>	20-40	Micelio inconspicuo a menudo está completamente por debajo de los conidios	Cuando presenta pigmentos solubles son de color naranja-café	De color ligeramente gris a verde opaco	Colonias variables, pequeñas y planas. Penicilios abundantes
<u>G25N</u>	17-22	Conidiogénesis moderada, en la periferia de color verde opaco a azul-verde glauco en el centro de color verde a café	Exudados ausentes, pigmentos solubles de color café rojizo cuando se producen	Pálido a café opaco o café rojizo	Radialmente sulcado, densa, algunas veces de velutinosa a ligeramente flocosa o definitivamente es granular. Penicilos moderados de color verde opaco a azul-verde, en el centro verde a café
<u>CYA 5° C</u>	2-4				Flocosas blancas o raramente cafés
<u>CYA 37 °C</u>	No presenta				
Características micromorfológicas					
Conidióforos: terverticilados, hifas superficiales; conidios de paredes lisas, elipsoidales, 3-3.5 µm*2.5-3 µm; fiálides: cilíndricas 8-12 µm*2.5-3.2 µm; métula; cilíndrica, 11-15 µm*3-4 µm; Esclerocios ausentes.					