

66
20je.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**CONFIRMACION QUIMICA Y ESTUDIO
EPIZOOTIOLOGICO DE FUMONISINA B1 (FB1)
EN MAIZ DE OAXACA CAUSANTE DE
LEUCOENCEFALOMALACIA EQUINA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
PRESENTA ANTE LA DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES
MIGUEL GARCIA TORRES**

BAJO LA ASESORIA DE

MVZ. RENE ROSILES MARTINEZ

MVZ. JUAN MANUEL HORTA RAMIREZ

MVZ. JANITZIO ARIEL BAUTISTA ORDOÑEZ

MEXICO, D. F.

1994



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

UNAM



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 está 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.

DEDICATORIAS

En memoria de mi padre
Nolberto García Parra

A mi madre, Ernestina Torres González

Quien siempre y en todo momento y al lado de mis hermanos y hermanas me han brindado todo su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores, con gratitud por compartir su conocimiento conmigo para la realización del presente trabajo.

A el Dr. Frank P. Ross¹, por habernos facilitado el estandard para la detección de esta toxina.

A mi querida facultad, de la cual he obtenido una formación profesional.

¹ National Veterinary Services Laboratories, USDA, Ames IA
50010, U.S.A.

A MI HONORABLE JURADO

Presidente	MVZ. Ramiro Calderón Villa
Vocal	MVZ. Enrique Nuñez Hernández
Secretario	MVZ. Antonio Díaz Cruz
Suplente	MVZ. René Rosiles Martínez
Suplente	MVZ. Marcela Figueroa Ochoa

Por haber compartido conmigo su experiencia académica para la conclusión de este trabajo.

CONTENIDO

PAGINA

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Hipotesis y Objetivos.....	6
Material y Método.....	7
Resultados.....	11
Discusión.....	13
Literatura citada.....	15
Fotografías.....	21
Cuadros.....	22
Figuras.....	23

RESUMEN

GARCIA TORRES MIGUEL Confirmación Química y Estudio Epizootiológico de Fumonisina B1 (FB1) en Maíz de Oaxaca Causante de Leucoencefalomalacia Equina (Bajo la asesoría de: MVZ. René Rosiles Martínez, MVZ. Juan Manuel Horta Ramírez y MVZ. Janitzio Ariel Bautista Ordoñez).

La leucoencefalomalacia equina ha sido reportada en casi todo el mundo, en México no se había hecho la asociación de la fumonisina B1 (FB1) con la leucoencefalomalacia equina sin embargo en éste estudio se reporta por primera vez la confirmación de la FB1 en maíz del estado de Oaxaca, México, donde hubo un brote de leucoencefalomalacia y muerte de equinos y asnos con signología de tipo nerviosa y lesiones de leucoencefalomalacia en el Sistema Nervioso Central.

Para la confirmación de la FB1 se utilizó el método de cromatografía en capa fina, fase reversa y extracción metanólica de esta toxina, que soporta el proceso del peletizado del alimento para caballos, en el caso de que se utilice para su fabricación maíz contaminado con ésta toxina.

Las concentraciones de FB1 que se encontraron en los análisis realizados, van desde 1-10 μg de FB1/g de muestra y se considera que estas concentraciones son causantes de la leucoencefalomalacia, ya que estos equinos murieron por esta enfermedad.

En otros estudios que se han hecho sobre la cuantificación de esta toxina, se reporta un rango de detección que va desde 1-126 ppm de FB1/g de muestra y se menciona que la dosis letal para los equinos es de 10 μg de FB1/g de muestra.

Esta toxina representa un serio problema ya que también se le ha asociado con un síndrome de edema pulmonar en cerdos, cáncer de hígado en ratas y el más importante, cáncer esofágico en humanos, que ha sido reportado en Transkei, Sudafrica, ya que el maíz es uno de los alimentos básicos de muchas familias mexicanas.

INTRODUCCION

Las fusariotoxinas son producidas por hongos del género *Fusarium* y en este grupo se encuentra la fumonisina B1 (FB1), sintetizada por *Fusarium moniliforme*; que es un deuteromicete septado u hongo imperfecto, ya que solo se conoce su reproducción asexual, su micelio es de color durazno, crema pálido, violeta púrpura a lila.

Es contaminante casi universal del maíz. Se distribuye en todo el mundo a lo largo de zonas tropicales y subtropicales y crece en sustratos de cereales principalmente. ^{4,6,7,12,22,24,27,31}.

La especie *Fusarium proliferatum* también es capaz de producir la FB1. ^{18,21}.

Los mohos crecen en los alimentos almacenados sobre todo en los que contienen mucha humedad. Así es frecuente la intoxicación de los animales por el maíz enmohecido que consumen, ya que este grano contiene mucha humedad al momento del corte y resulta difícil de recolectar o almacenar en el momento adecuado de madurez y contenido de humedad.

La frecuente aparición de crecimiento de hongos en los alimentos almacenados demuestra que las micotoxicosis ocurren con mayor frecuencia en animales confinados.

El problema importante inmediato es prevenir la micotoxicosis.

Los alimentos infestados ó que se sospeche que lo están deben ser eliminados ó incluidos a un máximo de 10% con alimentos no dañados. ⁵.

Por otro lado también se menciona que la FBI resiste al proceso del pelletizado del alimento para caballos, ya que se hizo un análisis para la determinación de esta toxina en pellets que consumían caballos clínicamente sanos, encontrándose niveles bajos de FBI en estos análisis. ²³.

El primer caso notificado de esta enfermedad en México fué en 1970 cuando Schunemann H. de A. identificó un problema nervioso en caballos asociado con la presencia de Fusarium spp en el alimento y leucoencefalomalacia.

Recientemente este mismo síndrome ha sido identificado en USA, Egipto, Brasil y Europa al correlacionar el consumo del alimento confirmado con la enfermedad en el caballo.

En Sudáfrica ha sido reproducida experimentalmente por la administración intravenosa de la FBI. ^{3,13,18,21,24}.

A esta enfermedad también se le conoce como: Tambaleo ciego, cerebritis, enfermedad del maíz mohoso, leucoencefalitis, enfermedad del forraje y meningitis cerebroespinal, en los diferentes lugares donde ésta se presenta. ^{7,10}.

Los signos clínicos son: ataxia, anorexia, paresia, apatía, hiperestesia, pérdida de la condición general del animal, disturbios locomotores, períodos alternos de excitación y somnolencia, caminan en círculos y apoyan la cabeza en objetos duros, todo esto debido a la alteración funcional del sistema nervioso, 3,7,14,15,16.

A la FBI, se le considera como promotor del cáncer, actividad que a corto tiempo da inicio ó lo promueve 10,20, además, la FBI ha sido asociada con un síndrome de edema pulmonar porcino (Kriek et al., 1981), cáncer esofágico en humanos (Marasas et al., 1988a), cáncer de hígado en ratas (Marasas et al., 1984a, Jaskiwicz et al., 1987).

La toxicidad ocurre por la inhibición de la biosíntesis de esfingolípidos, en las células nerviosas.

Por otro lado, la literatura también menciona, que esta toxina bloquea la formación del enlace amida entre el ácido graso y la esfinganina, reacción catalizada por la enzima esfinganina N-acetiltransferasa, enzima reguladora de la biosíntesis e intercambio de esfingolípidos (fosfolípidos de membrana), ocasionando un aumento en la concentración de esfinganina y una disminución en la concentración de esfingocina.

Una inhibición prolongada de la reacción catalizada por la esfinganina N-acetiltransferasa, disminuirá el contenido total de esfingolípidos. 2,11,17,25,26,28,31. (Figura No 1).

El curso de esta enfermedad depende de la cantidad de FBl en el alimento. Si la fuente es el maíz, dependerá de la cantidad de maíz usado en la ración y la cantidad de FBl en éste.

Otros factores que hacen más evidente a la enfermedad, se relacionan a la tolerancia ó a la susceptibilidad del caballo a la toxina. ^{4,6,7,12,16,22,24,27,30.}

Actualmente se esta prestando mucha atención a esta fase de la micotoxicología (contaminación de los alimentos con toxinas de origen micótico que ingieren los animales y el hombre) debido a las características carcinógenas de algunas toxinas de origen micótico.

La mayoría de los métodos de examen de los alimentos practicados para encontrar micotoxinas son del tipo del análisis cromatográfico. ^{4.}

El cual consiste en aplicar las muestras que van a ser analizadas, en una capa de sílice (cromatografía de capa delgada), junto con un solvente revelador para que las moléculas sean arrastradas, resultando en su separación.

El solvente o el líquido que es atrapado por el medio de sosten (sílice), se llama fase estacionaria y al solvente revelador se le llama fase móvil. ^{4.}

La cromatografía de capa fina, fase reversa, puede separar compuestos que no son separables por la cromatografía de capa fina, fase normal.

La cromatografía por fase reversa involucra el uso de una fase no polar, fase estacionaria y una fase móvil polar. ^{29.}

HIPOTESIS

La concentración de fumonisina B1 (FB1) en maíz consumido por los equinos de Oaxaca es tan alta para señalarse como causa de leucoencefalomalacia equina.

OBJETIVOS

1.- Establecer la técnica de identificación de la fumonisina B1 por cromatografía de capa fina fase reversa en el Laboratorio de Toxicología de la F.M.V.Z., U.N.A.M.

2.- Conocer el número de muestras de maíz contaminado, y la concentración de FB1 como responsable de la inducción de leucoencefalomalacia equina en un brote del estado de Oaxaca.

MATERIAL Y METODO

Se analizaron 14 muestras de maíz, que se recibieron en el Laboratorio de Toxicología de la F.M.V.Z., U.N.A.M., utilizadas como alimento para caballos que al consumirlo desarrollaron leucoencefalomalacia, en varios municipios del estado de Oaxaca, México, para la identificación y cuantificación de la fumonisina B1 (FB1), donde se registró un elevado número de muertes de equinos y asnos (100 en promedio) con signología de tipo nerviosa y a la necropsia se observaron lesiones de leucoencefalomalacia, con un tiempo de duración de la enfermedad hasta de 48 horas.

Las muestras que se analizaron son procedentes de los municipios de: Tololote Pochutla, San Isidro Pochutla, San Isidro Apango, San Pedro Huarumbo (tres) El Salitre San Pedro, Santa María Huatulco (tres) Santiago Cuixtla, San Pedro Mixtepec, San Pedro Copala y Jamiltepec.

Dichas muestras se secaron durante un día a 60 C en una estufa, posteriormente se hizo el análisis para FB1 de acuerdo a la metodología descrita por Pittet y col (1992) modificada en el Laboratorio de Toxicología, como se describe a continuación: A) se pesan 25 g de la muestra a analizar. B) posteriormente se hace la extracción de la toxina con 50 ml de metanol/agua (3:1, v:v), a través de la molienda de esta, por 5 minutos. C) este extracto se hace pasar por papel filtro de poro grueso, para obtener el metanol/agua.

D) Se ponen 4 ml de éste filtrado en un cartucho de intercambio ionico, strong anion exchange (SAX), previa activación con 0.5 ml de metanol/agua (3:1, v:v) se pone a centrifugar por un minuto a 250 rpm y se desecha el filtrado.

E) El cartucho se lava por centrifugación 2 veces con metanol/agua (3:1, v:v). F) después se lava al igual que el paso anterior, con 3 ml de metanol absoluto, desechando ambos filtrados.

G) En seguida se lava el cartucho tres veces con una solución de ácido acético/metanol al 0.5% para extraer la toxina. Estas extracciones son colectadas para ser evaporadas a través de una fuente de calor seco y gas nitrógeno.

H) El residuo se resuspende con 100 μ l de metanol absoluto, para que sean aplicados 20 μ l de ésta resuspensión en la cromatoplaca de capa fina, fase reversa, previamente activada en una estufa a 120 C por 10 minutos.

I) También se aplican 10 μ l del estandard de FB1, que en éste caso tiene una concentración de 100 ppm. J) se pone a desarrollar la placa en una fase móvil compuesta por metanol absoluto/agua desmineralizada (70:30, v:v) y se deja que desarrolle hasta un 90% del largo total de la placa.

K) En seguida la placa es secada con una corriente de aire, y es atomizada con una solución de vainillina al 0.5% en ácido sulfúrico y etanol (97% de ácido sulfúrico/etanol, 4:1, v:v).

L) Nuevamente se seca con corriente de aire y se pone la placa en una estufa por 3 minutos a 80 C para poner en evidencia a la FBI a través del desarrollo de color azul purpura por el efecto del calor.

M) La cuantificación se hace por comparación visual del estandard con la muestra. ¹⁹.

Esta es la primera vez que en México se confirma la presencia de la FBI en el alimento para caballos que murieron por leucoencefalomalacia.

Algunos pasos en la técnica de extracción fueron modificados para poder adaptar la técnica a las condiciones de trabajo en el Laboratorio de Toxicología, de la F.M.V.Z., U.N.A.M.

Al poner la muestra en el cartucho de intercambio ionico, strong anion exchange (SAX), éste es centrifugado con la finalidad de hacer pasar la muestra a una velocidad más rápida, en cambio en la técnica de Pittet y col ¹⁹, esto se hace por medio de un sistema de vacío.

Otro paso que se modificó es que la muestra se evaporó con una fuente de calor seco, en un ambiente de gas nitrógeno con la finalidad de agilizar la evaporación.

Otro paso modificado fue utilizar una alicuota de 20 μ l de la muestra la cual se aplicó directamente en la cromatoplaca y por otro lado el estándar de FBI (10 μ l), en cambio en la técnica de Pittet, la alicuota de la muestra se derivatiza con o-phthaldialdeido (OPA) para la separación en fase reversa en sistema HPLC (high performance liquid chromatography) completado con detección con fluorescamina¹⁹.

El último paso modificado fue colocar la cromatoplaca en la estufa por 3 minutos a 80 C y en la técnica de Pittet, se pone por 10 minutos a 120 C.

Para hacer evidente la visualización de el estándar de FBI y las bandas del ó los compuestos de la muestra, estas bandas se observan de un color azul-purpura.

RESULTADOS

Fueron analizadas 14 muestras para determinación y cuantificación de fumonisina B1 (FB1), asociadas con un brote de leucoencefalomalacia equina, en 10 municipios del estado de Oaxaca, México, de las cuales 11 resultaron positivas y 3 negativas.

El estándar de FB1, tiene un viraje de color azul púrpura con la solución ácida de vainillina, al ponerla en la estufa a 80 C por tres minutos, presentando un Rf de 20 mm (distancia del centro del punto de inicio de aplicación de la muestra/distancia al punto máximo de desarrollo del solvente) en la cromatoplaaca de fase reversa.

La muestra no. 1 no presentó bandas en la cromatoplaaca de fase reversa, por lo cual en dicha muestra no se detecta FB1.

La muestra no. 4 presentó 2 bandas con Rf superior a 20 mm que es la distancia de desarrollo del estándar para FB1, por lo cual en dicha muestra tampoco se detecta FB1.

La muestra no. 7 al igual que la muestra no. 4, mostró dos bandas con un Rf de 10 y 26 mm respectivamente, por lo cual es considerada negativa ya que en ambas muestras estas bandas corresponden a otros compuestos, ya que no coinciden con el Rf del estándar para FB1 (20 mm).

Por lo que respecta a las muestras 2,3,6,8,9,10, mostraron una sola banda de color azul púrpura en la cromatoplaca, que coincide con el Rf del estándar para FB1, teniendo una concentración de 8,10,2,4,4,1, μg de FB1/g de muestra, respectivamente, por lo cual éstas muestras son positivas a FB1.

Las muestras 5,11,12,13,14, también presentaron una banda color azul púrpura que coincide con el Rf de FB1, por lo tanto también son positivas, teniendo una concentración de 2,2,2,4,1, μg de FB1/g de muestra, respectivamente y presentaron bandas que están por arriba y por debajo del Rf del estándar para FB1. (cuadro No 1, fotografía 1).

Sin embargo todas las bandas que se derivan aquí, son bandas que reaccionan positivamente a la vainillina y que fueron arrastradas por la fase móvil (fase reversa).

Se considera con esto que todas estas bandas estructuralmente deben ser parecidas a la FB1. En cuanto a la concentración de FB1, se tiene que va desde 1-10 μg de FB1/g de muestra y las concentraciones que más predominan son las de 2 y 4 μg de FB1/g de muestra, llegando a la conclusión que estas concentraciones son capaces de ocasionar la leucoencefalomalacia equina.

DISCUSION

En éste estudio se encontraron concentraciones de FB1 que van de 1-10 μg de FB1/g de muestra y las que más predominan son las de 2 y 4 μg de FB1/g de muestra.

Ross y col ²³, reportan un rango de detección de FB1 que va de <1 ppm a 126 ppm e indica que el alimento con más de 10 μg de FB1/g de muestra no es digno de confianza para alimentar a los caballos, ya que concentraciones mayores ó iguales a 10 μg de FB1/g de muestra son letales para los caballos. ²².

En otros estudios realizados por Sydenham y col ²⁵, Alberts y col ², al igual que Ross y col ²³, reportan límites de detección de FB1, de 10 μg de FB1/g de muestra, en casos asociados con leucoencefalomalacia.

Sin embargo en este estudio todos los equinos y asnos (100 en promedio) que consumieron este maíz enmohecido, murieron por leucoencefalomalacia, aún con concentraciones menores a 10 μg de FB1/g de muestra, esto nos sugiere que los equinos son muy susceptibles a la FB1, por lo cual el alimento que este contaminado con esta toxina no se debe dar a los equinos, ni aún incluido en baja concentración en su dieta.

Ya que con base a estos resultados, se sospecha que concentraciones aún menores a 10 μg de FBl, ocasionan la leucoencefalomalacia equina.

LITERATURA CITADA

- 1.- Azcona-Olivera, J.I., Abouzied, M., Plattner, R.D., Pestka, J.J.: Production of Monoclonal Antibodies to the Mycotoxins Fumonisin B1, B2, and B3. J. Agric. Food. Chem. **40**, 531-534 (1992).
- 2.- Alberts, J.F., Gelderblom, W.C.A., Thiel, P.G., Marasas, W.F.O., Van Schalkwyk, D.J., Behrend, Y.: Effects of Temperature and Incubation Period on Production of Fumonisin B1 by *Fusarium moniliforme*. Appl. Environ. Microbiol. **1729-1733** (1990).
- 3.- Barros, C. S. L., Barros, S. S. de, Santos, M. N., e Sousa, M. A.: Leucoencefalomalácia em equinos no Rio Grande do Sul, Pesq. Vet. Bras. **4**:101-107 (1984).
- 4.- Brownie, C. F., Cullen, J.: Characterization of experimentally Induced Equine Leukoencephalomalacia (ELEM) in Ponies (*Equus caballus*): Preliminary Report, Vet. and Human Tox. **29**: 1, 34 - 38 (1987).
- 5.- Blood, D.C., Henderson, J.A. y Radostts, O.M.: Medicina Veterinaria, 6a edición, Interamericana. México, D.F. 1986.
- 6.- Buck, W.B.: Etiology of Leukoencephalomalacia, Mod Vet Pract. **61**: 417 (1980).
- 7.- Domenech, J., Boccas, B., Pellegrin, F., Laurent, D., Kohler, F., Magnol, J. and Lambert C: Equine Leucoencephalomalacia in New Caledonia Aust Vet J. **62**: 12, 422 - 425 (1985).

- 8.- Edwards, D.I.: Cromatografía Principios y Técnicas. El Manual Moderno, México, D.F., 1975.
- 9.- Gelderblom, W.C.A., Jazkiewicz, K., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Horak, R.M., Uleggaar, R., Kriek, N.P.J.: Fumonisin-Novels Micotoxins with Cancer-Promoting Activity Produced by *Fusarium moniliforme*. Appl. Environ. Microbiol. 54, 7, 1806-1811 (1988).
- 10.- Gabal, M.A., Awad, Y.L., Morcos, M.B., Barakat, A.M., Malik, G.: Fusariotoxicoses of Farm Animals and Micotoxic Leukoencephalomalacia of the equine Associated with the Finding of Trichothecenes In Feedstuffs. Vet. Hum. Toxicol. 28, 3, 207-212 (1986).
- 11.- Hwan, S. Y., William, P. N., Elaine, W., Merrill, A. H., Ronald, T.R: Fumonisin Inhibition of de Novo Sphingolipid Biosynthesis and Cytotoxicity Are Correlated in LLC-PK1 Cells Tox. and Appl. Pharm. 114 9 - 15 (1992).
- 12.- Kriek, N. P. J., Kellerman, T. S., Marasas, W. F. O.: A Comparative Study of The Toxicity of *Fusarium verticillioides* (=F. moniliforme) to Horses, Primates, Pigs, Sheep and rats Onderstepoort J. Vet. Res. 48:2, 129 - 131 (1981).
- 13.- Kellerman, T.S., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Gelderblom, W.C.A., Cawood, M., Coetzer, J.A.W.: Leukoencephalomalacia In Two Horses Induced by Oral Dosing of Fumonisin B1. Onderstepoort. J. Vet. Res. 57, 4, 269-275 (1990).

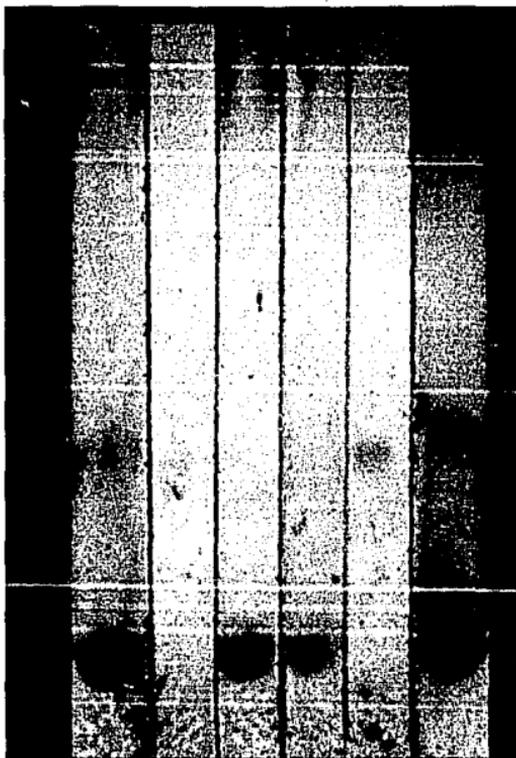
- 14.- Marasas, W. F. O., Kellerman, T. S., Gelderblom, W. C. A., Coetzer, J. A. W., Thiel, P. G., Lugh, J.J.: Leukoencephalomalacia In A Horse Induced By Fumonisin B1 Isolated From *Fusarium moniliforme* Onderstepoort J. Vet. Res. 55:4, 197 - 203 (1988).
- 15.- Marasas, W.F.O., Kellerman, T.S., Pienaar, J.G., Naude, T.W.: Leukoencephalomalacia: A micotoxicosis of Equidae Caused by *Fusarium moniliforme* Sheldon. Onderstepoort. J. Vet. Res. 43, 3, 113-122 (1976).
- 16.- McCue, P.M.: Equine Leukoencephalomalacia. The Compendium Equine, 11, 5, 646-650 (1989).
- 17.- Nelson, P.E., Plattner, R.D., Shackelford, D.D., Desjardins, A.E.: Production of Fumonisins by *Fusarium moniliforme* Strains from Various Substrates and Geographic Areas. Appl. Environ. Microbiol., 57, 8, 2410-2412 (1991).
- 18.- Pienaar, J. G., Kellerman, T. S., Marasas, W. F. O.: Field Outbreaks of Leukoencephalomalacia in Horses Consuming Maize Infected By *Fusarium verticillioides* (= *F. moniliforme*) in South Africa J. of the South African Vet. Assoc. 52:1, 21 - 24 (1981).
- 19.- Pittet, A., Parisod, V., Schellenberg, M.: Occurrence of Fumonisins B1 and B2 In Corn-Based Products From The Swiss Market. J. Agric. Food. Chem. 40, 1352-1354 (1992).

- 20.- Rheeder, J.P., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Sydenham, E.W., Shephard, G.S., Van Schalkwyk, D.J.: Fusarium moniliforme and Fumonisin In Corn In Relation to Human Esophageal Cancer in Transkei. Phytopathology, 82, 3, 353-357 (1992).
- 21.- Ross, P. F., Nelson, P. E., Richard, J. L., Osweiler, G. D., Rice, L. G., Plattner, R. D., Wilson, T. M.: Production of Fumonisin by Fusarium moniliforme and fusarium proliferatum Isolates Associated with Equine Leukoencephalomalacia and a Pulmonary Edema Syndrome in Swine Appl. and Environ. Microbiol. 56:10, 3225 - 3226 (1990).
- 22.- Ross, P. F., Rice, L. G., Plattner, R. D., Osweiler, G. D., Wilson, T. M., Owens, D. L., Nelson, H. A., Richard J. L.: Concentrations of Fumonisin B1 in Feeds Associated With Animal Health Problems Micopathologia 114:3, 129 - 135 (1991).
- 23.- Ross, P.F., Rice, L.G., Reagor, J.C., Osweiler, G.D., Wilson, T.M., Nelson, H.A., Owens, D.L., Plattner, R.D., Harlin, K.A., Richard, J.L., Colvin, B.M., Banton, M.I.: Fumonisin B1 Concentrations In Feeds From 45 Confirmed Equine Leukoencephalomalacia Cases. J. Vet. Diagn. Invest. 3, 238-241 (1991).
- 24.- Sanchez, S. M., Alba, P. G., de, Constantino, C. F., De Alba, P. G: Leucoencefalomalacia en Equinos (Estudio anatomopatológico de tres casos) Veterinaria México. 18:2, 145 - 150 (1987).

- 25.- Sydenham, E.W., Gelderblom, W.C.A., Thiel, P.G., Marasas, W.F.O.: Evidence for The Natural Occurrence of Fumonisin B1 A Micotoxin Produced by *Fusarium moniliforme*, in Corn. J. Agric. Food. Chem. 38, 285-290 (1990).
- 26.- Sydenham, E.W., Shephard, G.S., Thiel, P.G.: Liquid Chromatographic Determination of Fumonisin B1, B2, and B3 In Foods and Feeds. J. A.O.A.C. International, 75, 2, 313- 318 (1992).
- 27.- Thiel, P. G., Gelderblom, W. C. A., Marasas, W. F. O.: Natural Occurrence of Moniliformin and Fusarin C in Corn Screenings Known To Be Hepatocarcinogenic in Rats J. of Agric. and Food Chem. 34:5, 773 - 775 (1986).
- 28.- Thiel, P.G., Marasas, W.F.O., Sydenham, E.W., Shephard, G.S., Gelderblom, W.C.A., Nieuwenhuis, J.J.: Survey of Fumonisin Production by *Fusarium* Species. Appl. Environ. Microbiol., 57, 4, 1089-1093 (1991).
- 29.- Touchtone, J.C.: Practice of Thin Layer Chromatography, 3a edición, John Wiley and Sons Inc. 1992.
- 30.- Wilson, T. M., Nelson, P. E., Ryan, T. B., Rouse, C. D.: Linking leukoencephalomalacia to commercial horse rations Veterinary Medicine. 80:11, 63 - 64, 66, 68 - 69 (1985).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 31.- Wang, P.E., Ross, F., Wilson, T.M., Riley, R.T., Merrill, A.H.: Increases in Serum Sphingosine and Sphinganine and Decreases in Complex Sphingolipids in Ponies Given Feed Containing Fumonisin, Micotoxins Produced by *Fusarium moniliforme*. J. Nutr., 122, 1706-1716 (1992).

Fotografía 1

De izquierda a derecha, los carriles 2 y 5 corresponden a 10 μ l de el estandard de 100 ppm de Fumonisina B1 (FB1), presentando un Rf (distancia del centro del punto de inicio de aplicación de la muestra/distancia al punto máximo de desarrollo del solvente) de 20 mm, los carriles 1,3,4,6, corresponden a 20 μ l de muestras que fueron analizadas y tienen una concentración de FB1, de 8, no detectable,, 2, 10 μ g de FB1/g de muestra, respectivamente.

CUADRO 1

LOCALIZACION (Rf mm) DE BANDAS REACTIVAS A LA VAINILLINA EN CROMATOPLACAS DE FASE REVERSA PARA EL ANALISIS DE FUMONISINA B1 (FBI) EN MAIZ DE OAXACA, MEXICO

No de Muestra	ORIGEN	No de Bandas	ESTANDARD FBI Rf=20 mm	µgFBI/g
			Rf DE LAS BANDAS	nuestra
1	Tololote Pochutla	n/b		No detec.
2	Sn Isidro Pochutla	1	20	8
3	Sn Isidro Apango	1	20	10
4	Sn Pedro Huauclama	2	28 37	No detec.
5	El Salitre Sn Pedro	4	13 20 24 28	2
6	Sta Ma Huautlco	1	20	2
7	Sn Pedro Huauclama	2	10 26	No detec.
8	Santiago Cuixtla	1	20	4
9	Sn Pedro Mixtepec	1	20	4
10	Sn Pedro Copala	1	20	1
11	Sta Ma Huautlco	4	8 13 20 27	2
12	Sta Ma Huautlco	3	17 20 24	2
13	Jamiltepec	4	15 17 20 25	4
14	Sn Pedro Huauclama	3	10 20 23	1

Figura 1

 INHIBICION DE LA BIOSINTESIS DE ESFINGOLIPIDOS POR FUMONISINA B1 (FB1)

