



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN

“EFECTO DE PELÍCULAS DE QUITOSÁN Y ACEITE  
ESENCIAL DE TOMILLO SOBRE LA CALIDAD  
SANITARIA Y BIOLÓGICA EN MAÍZ ALMACENADO”

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

ARGUIJO PÉREZ MARÍA

GUADALUPE

ASESORAS:

DRA. Susana Patricia Miranda Castro

M.C. María Cristina Julia Pérez Reyes



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

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

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, autoriza al alumno:

**María Guadalupe Arguijo Pérez**

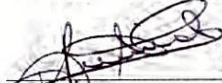



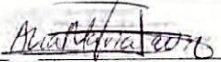
Con número de cuenta: **408073826** a presentar el: **Trabajo de Tesis**

**Efecto de películas de quitosán y aceite esencial de tomillo sobre la calidad sanitaria y biológica en maíz almacenado**

Bajo la asesoría de la: **Dra. Susana Patricia Miranda Castro**

Para obtener el título de: **Ingeniera en Alimentos**

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA Y FECHA
<b>PRESIDENTE</b>	Dr. José Francisco Montiel Sosa	 5/03/14
<b>VOCAL</b>	Dra. Susana Patricia Miranda Castro	 5/03/2014
<b>SECRETARIO</b>	IA. Miriam Álvarez Velasco	 4/03/14
<b>1er. SUPLENTE</b>	M. en C. María Guadalupe Amaya León	 4/III/14
<b>2do. SUPLENTE</b>	IA. Ana María Sabina de la Cruz Javier	 5/Mar/14

Atentamente notificamos su participación en la revisión y evaluación del trabajo para que en un plazo no mayor a 30 días hábiles emita su VOTO APROBATORIO.

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
**“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”**  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 27 de febrero de 2014.

**M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO**  
JEFE DEL DEPARTAMENTO

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

## **DEDICATORIA**

*A mis padres Felicitas Pérez Reyes y Felipe de Jesús Arguijo Morales por ayudarme, aconsejarme y apoyarme en cada etapa de mi vida, por hacer de mi una persona de bien, por los valores y virtudes que me enseñaron, pero sobre todo por todo el esfuerzo y dedicación que me han dado para poder lograr uno de mis sueños, que es terminar una carrera universitaria.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*A mis padres por brindarme las herramientas y enseñarme cual importante es seguir adelante hasta el final, por su apoyo durante cada etapa de mi vida y por hacer de mí la persona que soy ahora, por que sin ellos y sin su apoyo no hubiera podido terminar mi carrera universitaria. Gracias por todo papás, los amo mucho.*

*A mis hermanos Felipe y Carlos por estar conmigo en las buenas y en las malas, por ser un ejemplo a seguir. A mi abuelita Lupita por que se que siempre estoy en tus bendiciones, a mis tíos Carlos y Jorge por todo su apoyo, los quiero mucho.*

*A la Universidad Nacional Autónoma de México y sobre todo a la Fes Cuautitlán por enseñarme tantas cosas. A mis profesores de la Facultad por brindarme sus conocimientos.*

*A mis asesoras de tesis la Dra. Patricia Miranda Castro y a la M.C. Cristina Pérez Reyes por que sin sus enseñanzas, su paciencia y sus consejos no hubiera sido posible la realización de este trabajo; también quiero agradecer a la M. Gabriela Hernández que aunque formalmente no fue mi asesora si lo fue en la práctica, gracias a las tres por su apoyo, por la confianza que me brindaron y sobre todo por demostrarme que además de ser buenas maestras son excelentes personas.*

*A Erick Daniel Morales por ser el amor de mi vida, por quererme y apoyarme gran parte de mi etapa universitaria y durante la realización de este trabajo, te amo mucho, muchas gracias por toda tu ayuda.*

*A mis amigos Marisol, Diana, Ivan, Paty, Lili, Carol, Bren, Vane, Rot, Elba, Toño e Ivan (Charal) por ser más que eso y convertirse en mi segunda familia, gracias por todos los momentos buenos y malos que compartieron conmigo y por creer en mí. A Vanessa Romero por su amistad y apoyo incondicional. A Anita Soriano por ayudarme con mis datos estadísticos en este trabajo.*

*A todas las personas que me han ayudado en mi crecimiento profesional y personal, gracias.*

## ÍNDICE

RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	2
CAPÍTULO I. Antecedentes .....	4
1.1 Generalidades del maíz .....	4
1.1.1 Clasificación botánica .....	5
1.1.2 Morfología.....	5
1.1.3 Fisiología .....	7
1.1.4 Tipos de maíz.....	8
1.1.4.2 Composición química de las partes del grano.....	10
1.1.4.3 Composición química general .....	11
1.1.5 Producción mundial de maíz.....	12
1.1. 6 Producción de maíz en México.....	13
1.1.7 Almacenamiento .....	16
1.1.8 Generalidades de los hongos .....	17
1.1.8.1 Clasificación ecológica que invaden granos y semillas .....	17
1.1.8.2 Hongos de campo presentes en el maíz.....	20
1.1.8.3 Hongos de almacén.....	23
1.1.8.4 Hongos de deterioro avanzado.....	25
1.1.8.5 Micotoxicosis .....	25
1.1.8.6 Micosis en el hombre y animales.....	29
1.1.9 Generalidades de las películas y recubrimientos comestibles.....	30
1.1.9.1 Historia.....	30
1.1.9.2 Importancia de los biopolímeros .....	30
1.1.9.3 Definiciones.....	31
1.1.9.4 Formulaciones .....	32
1.1.9.5 Materias primas de las películas comestibles y/o biodegradables .....	33
1.1.9.6 Plastificantes.....	33
1.1.9.7 Propiedades de las Películas.....	34
1.1.9.8 Requerimientos para utilizar las películas y recubrimientos .....	34
1.1.9.9 Aplicaciones en Alimentos .....	35
1.1.10 Generalidades de la quitina y el quitosán.....	35
1.1.10.1 Quitina y quitosán.....	35
1.1.10.2 Procesamiento de la Quitina y Quitosán.....	37

1.1.10.3 Degradación de Quitosán.....	38
1.1.10.4 Grado de Acetilación (DA)/ Desacetilación (DD).....	39
1.1.10.5 Actividad antimicrobiana del quitosán .....	40
1.1.11 Generalidades de los aceites esenciales .....	43
1.1.11.1 Composición Química .....	43
1.1.11.2 Mecanismo de acción antioxidante .....	44
1.1.11.3 Compuestos con actividad antimicrobiana .....	45
1.1.11.4 Extracción de aceites esenciales.....	47
1.1.11.5 Características del Tomillo ( <i>Thymus vulgaris</i> ) .....	47
1.1.11.6 Clasificación Científica.....	48
1.1.11.7 Composición Química .....	48
1.1.11.8 Mecanismo antioxidante.....	48
1.1.11.9 Potencial Antimicrobiano.....	49
CAPÍTULO II. Metodología .....	50
2.1 Objetivo General .....	50
2.2 Objetivos Particulares.....	50
2.3 Cuadro Metodológico.....	51
2.3.1 Descripción de actividades.....	52
CAPÍTULO III. Resultados y Discusión.....	65
3.1 Determinación de la calidad biológica y sanitaria inicial que se presenta en los granos de maíz. ....	65
3.2 Evaluar la actividad antifúngica de un recubrimiento a base de a) quitosán, b) quitosán adicionado con aceite esencial de tomillo a dos diferentes concentraciones y c) aceite esencial de tomillo utilizando dos diferentes concentraciones en granos de maíz, bajo condiciones de 85% de humedad relativa a 25°C.....	66
3.3 Evaluar el efecto de los tratamientos de a) quitosán, b) quitosán adicionado con aceite esencial de tomillo a dos diferentes concentraciones y c) aceite esencial de tomillo a dos diferentes concentraciones como recubrimiento en granos de maíz sobre la germinación y vigor.....	76
CONCLUSIONES.....	86
RECOMENDACIONES.....	87
BIBLIOGRAFÍA .....	88
ANEXOS .....	98

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Teosinte y maíz.....	4
<b>Figura 2.</b> Morfología del maíz.....	6
<b>Figura 3.</b> Estructura del grano de maíz corte longitudinal.....	10
<b>Figura 4.</b> Países Productores de Maíz.....	13
<b>Figura 5.</b> Estadística de maíz en grano por ciclos productivos.....	14
<b>Figura 6.</b> Estados productores de maíz.....	15
<b>Figura 7.</b> Principales estados productores de maíz blanco.....	16
<b>Figura 8.</b> Cladosporium.....	21
<b>Figura 9.</b> F. verticillioides.....	22
<b>Figura 10.</b> F. tricinctum.....	23
<b>Figura 11.</b> Aspergillus flavus.....	24
<b>Figura 12.</b> <i>Penicillium</i> .....	25
<b>Figura 13.</b> Estructura química de la quitina (Berghoff, 2011).....	36
<b>Figura 14.</b> Estructura química del quitosán (Berghoff, 2011).....	36
<b>Figura 15.</b> Proceso de Elaboración de quitosán (Rudrapatman, et. al, 2003).....	38
<b>Figura 16.</b> Tomillo ( <i>T. vulgaris</i> ).....	48
<b>Figura 17.</b> Cuadro Metodológico.....	51
<b>Figura 18.</b> Quitosán y solución de quitosán.....	53
<b>Figura 19.</b> Preparación de la solución de quitosán con aceite de tomillo.....	54
<b>Figura 20.</b> Preparación de la solución de aceite de tomillo.....	54
<b>Figura 21.</b> Determinación del contenido de humedad.....	55
<b>Figura 22.</b> Prueba de germinación y vigor.....	55
<b>Figura 23.</b> Prueba de germinación y vigor.....	56
<b>Figura 24.</b> Determinación de la micobiota de granos de maíz en MSA y PDA.....	56
<b>Figura 25.</b> Campana de Flujo Laminar marca YECO.....	57
<b>Figura 26.</b> Aislamiento de los hongos.....	57
<b>Figura 27.</b> Hongos purificados.....	58
<b>Figura 28.</b> Homogeneizador Vortex.....	58
<b>Figura 29.</b> Pipeta Science.....	58
<b>Figura 30.</b> Sembrado de los hongos.....	59
<b>Figura 31.</b> Granos recubiertos con uno de los tratamientos.....	60
<b>Figura 32.</b> Granos tratados.....	60
<b>Figura 33.</b> Pesado de los granos tratados.....	61
<b>Figura 34.</b> Frascos con los granos tratados y recubiertos.....	61
<b>Figura 35.</b> Granos desinfectados superficialmente con hipoclorito de sodio.....	62
<b>Figura 36.</b> Determinación del contenido de humedad.....	63
<b>Figura 37.</b> Prueba de germinación y vigor inicial.....	65
<b>Figura 38.</b> Frecuencia de hongos presentes en el grano de maíz almacenado durante 20 días con diferentes tratamientos.....	68
<b>Figura 39.</b> Frecuencia de hongos presentes en el grano de maíz almacenado durante 40 días con diferentes tratamientos.....	69



<b>Figura 40.</b> Frecuencia de hongos presentes en el grano de maíz almacenado durante 60 días con diferentes tratamientos. ....	70
<b>Figura 41.</b> Frecuencia de hongos presentes en el grano de maíz almacenado durante 80 días con diferentes tratamientos. ....	71
<b>Figura 42.</b> Frecuencia de hongos presentes en el grano de maíz almacenado durante 100 días con diferentes tratamientos. ....	72
<b>Figura 43.</b> Frecuencia de hongos presentes en el grano de maíz almacenado durante 120 días con diferentes tratamientos. ....	73
<b>Figura 44.</b> Porcentaje de Germinación a los 20 días en los diferentes tratamientos. ....	77
<b>Figura 45.</b> Porcentaje de Germinación a los 40 días en los diferentes tratamientos. ....	78
<b>Figura 46.</b> Porcentaje de Germinación a los 60 días en los diferentes tratamientos. ....	78
<b>Figura 47.</b> Porcentaje de Germinación a los 80 días en los diferentes tratamientos. ....	79
<b>Figura 48.</b> Porcentaje de Germinación a los 100 días en los diferentes tratamientos. ....	80
<b>Figura 49.</b> Porcentaje de Germinación a los 120 días en los diferentes tratamientos. ....	80
<b>Figura 50.</b> Porcentaje de Vigor a los 20 días en los diferentes tratamientos. ....	81
<b>Figura 51.</b> Porcentaje de Vigor a los 40 días en los diferentes tratamientos. ....	82
<b>Figura 52.</b> Porcentaje de Vigor a los 60 días en los diferentes tratamientos. ....	83
<b>Figura 53.</b> Porcentaje de Vigor a los 80 días en los diferentes tratamientos. ....	83
<b>Figura 54.</b> Porcentaje de Vigor a los 100 días en los diferentes tratamientos. ....	84
<b>Figura 55.</b> Porcentaje de Vigor a los 120 días en los diferentes tratamientos. ....	84

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Perfil taxonómico. ....	5
<b>Tabla 2.</b> Componentes del grano de maíz. ....	10
<b>Tabla 3.</b> Composición química del grano de maíz y de sus componentes (valores en promedio base seca). ....	11
<b>Tabla 4.</b> Valor Nutrimental del maíz. ....	11
<b>Tabla 5.</b> Componentes del grano de maíz. ....	12
<b>Tabla 6.</b> Contenido de humedad en granos. ....	20
<b>Tabla 7.</b> Algunas micotoxinas producidas por especies de <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> y <i>Fusarium</i> . ....	27
<b>Tabla 8.</b> Principales tipos de compuestos antimicrobianos provenientes de plantas. ....	46
<b>Tabla 9.</b> Características del grano de maíz utilizado para la experimentación. ....	52
<b>Tabla 10.</b> Calidad biológica del maíz sin tratamiento. ....	65
<b>Tabla 11.</b> Determinación del contenido de humedad (porcentaje) del maíz almacenado durante 120 días con los diferentes tratamientos. ....	66
<b>Tabla 12.</b> Hongos totales presentes en el grano de maíz almacenado por 120 días a 85% de HR y 25°C con los diferentes tratamientos. ....	76

## RESUMEN

En el presente trabajo el maíz de la variedad H-48 se recubrió con diferentes tratamientos, quitosán al 1% (Q 1%), quitosán adicionado con aceite esencial de tomillo a dos concentraciones (QAT 0.05%, QAT 0.1%) y dos concentraciones de aceite de tomillo (ACT 0.1% y ACT 0.2%), además del testigo (T). Estos se almacenaron en cámaras de 85% de HR, durante 120 días realizando muestreos cada 20 días y tres repeticiones para cada tratamiento.

Para evaluar el efecto de los diferentes tratamientos sobre la microbiota natural del maíz, se realizó por el método de placa malta sal agar (Mathur y Komgsdal, 2003).

También se determinó el contenido de humedad por el método de secado en estufa, la germinación y vigor por el método de longitud media de plúmula (Moreno, 1996) para determinar la calidad biológica del maíz.

Los resultados se analizaron estadísticamente con un análisis de varianza (ANOVA) en un programa estadístico MINITAB Versión 16. Siendo el mejor tratamiento para inhibir el crecimiento de hongos y para la germinación hasta los 120 días el aceite de tomillo al 0.2%, funcionando todos los tratamientos para la germinación tan solo hasta la mitad del período de almacenamiento.

## INTRODUCCIÓN

Una de las preocupaciones más apremiantes de los países en vías de desarrollo es la insuficiente producción de alimentos básicos, como son los granos y semillas (Gómez, 1995). La disponibilidad de granos depende de una serie de factores entre los que se encuentran las pérdidas ocasionadas por plagas (Moreno, 1991). Se estima que en México anualmente, se pierden del 25 al 50% de los granos a causa de insectos, roedores y hongos (Schneider K, 1995; MasAgro, 2013).

El maíz (*Zea mays*), uno de los tres principales cultivos alimentarios del mundo, es susceptible a más de 30 enfermedades causadas por hongos (Deng De-xiang, 2009), la infección se da sobre todo en pre-cosecha, postcosecha y etapas de almacenamiento (Moreno y Kang 1999). Algunas especies de estos hongos son productoras de micotoxinas como las aflatoxinas producidas por *Aspergillus flavus* (Deng De-xiang, 2009) que representan una gran amenaza a las personas y animales por ser potencialmente cancerígenas (Ariza, et al., 1992; Bennett y Klich, 2003).

Existe un creciente interés por producir alimentos de alta calidad con mayor vida útil y envasados o protegidos con materiales compatibles con el entorno ambiental. Bajo este contexto, el estudio y desarrollo de películas y recubrimientos biodegradables, se ha convertido en una alternativa de investigación de grandes alcances ya que en una sola formulación se pueden conseguir diferentes propiedades funcionales no sólo para la conservación del alimento a través de películas o recubrimientos activos, sino incluso para otorgarle un valor agregado nutrimental (Belloso y Rojas, 2006).

Los recubrimientos son matrices continuas formuladas a base de lípidos, proteínas o carbohidratos o mezclas de estos componentes. Un carbohidrato utilizado para la formulación de los recubrimientos comestibles es el quitosán, el cual reduce el crecimiento de hongos y bacterias (García, et al., 2004).

Así mismo se ha encontrado que los metabolitos secundarios más importantes son los aceites esenciales (EOS), que se extraen de plantas, comúnmente por un proceso de destilación y luego se usa como aditivos naturales en diferentes alimentos para reducir la proliferación de microorganismos y su producción de toxinas debido a su actividad

antiviral, antifúngico, antibacteriano, antioxidante y propiedades anti cancerígenas (Delaquis et al., 2002).

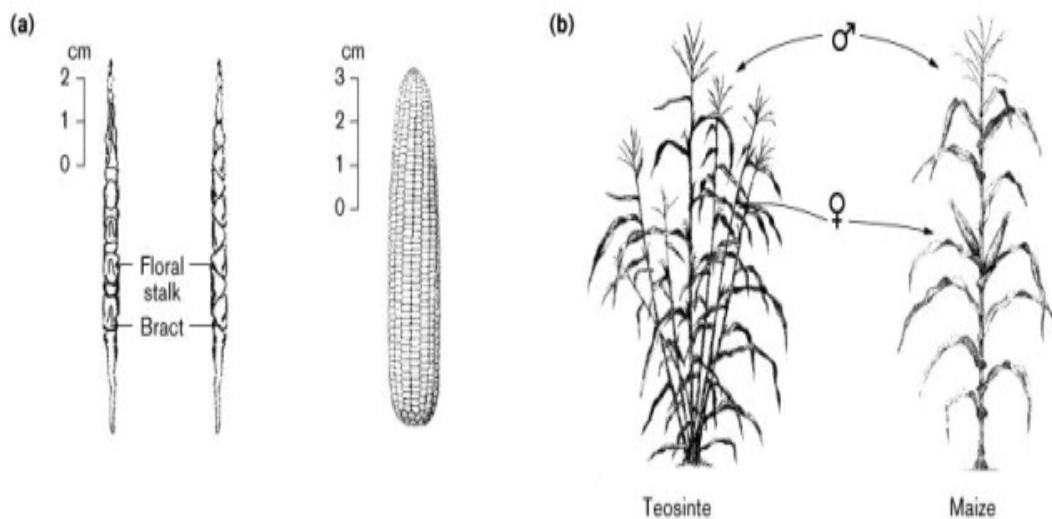
Con base en lo anterior se consideró importante formular recubrimientos comestibles con quitosán y adicionar a las formulaciones productos como los aceites esenciales, para evitar el desarrollo de microorganismos y así prolongar la vida de anaquel.

## CAPÍTULO I. Antecedentes

### 1.1 Generalidades del maíz

El maíz es una de las plantas cultivadas más importantes que descubrieron los primeros conquistadores del siglo XV en el Nuevo Mundo. Aunque es posible señalar a América Central como el primer centro de cultivo de maíz, el origen de la planta es más oscuro porque aparentemente no se conoce como planta silvestre. Sin embargo, en México existe una gramínea muy próxima al maíz, el teosinte (*Euchalena mexicana* Schrad.) híbrida libremente con *Zea mays* L., habiéndose sugerido que el maíz actual es de origen híbrido o que de alguna forma deriva del teosinte (Figura 1). Se ha identificado polen de maíz en las excavaciones de la ciudad de México que datan de hace unos 80,000 años, siendo bien conocido que el maíz fue originalmente una planta mucho más pequeña que en la actualidad, más próxima en talla al teosinte (Langer, 1987).

El maíz era un artículo esencial en las civilizaciones maya y azteca, y tuvo su principal papel en sus creencias religiosas, festividades y nutrición en ambos pueblos (FAO, 1993).



**Figura 1.** Teosinte y maíz.

Fuente: [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

## 1.1.1 Clasificación botánica

El maíz pertenece a la familia de las gramíneas. Su nombre científico es *Zea mays* (Tabla 1). Debido a que el maíz se ha cultivado en casi todas las partes del mundo, es posible encontrar plantas de este cereal con algunas características diferentes (Parsons, 1991).

**Tabla 1.** Perfil taxonómico.

Nombre binomial: <i>Zea mays</i> L.	
Reino	Plantae
División	Tracheophyta
Subdivisión	Pteropsidae
Clase	Angiospermae
Subclase	Monocotiledoneae
Grupo	Glumiflora
Orden	Graminales
Familia	Graminaceae
Tribu	Maydeae
Género	<i>Zea</i>
Especie	<i>Mays</i>

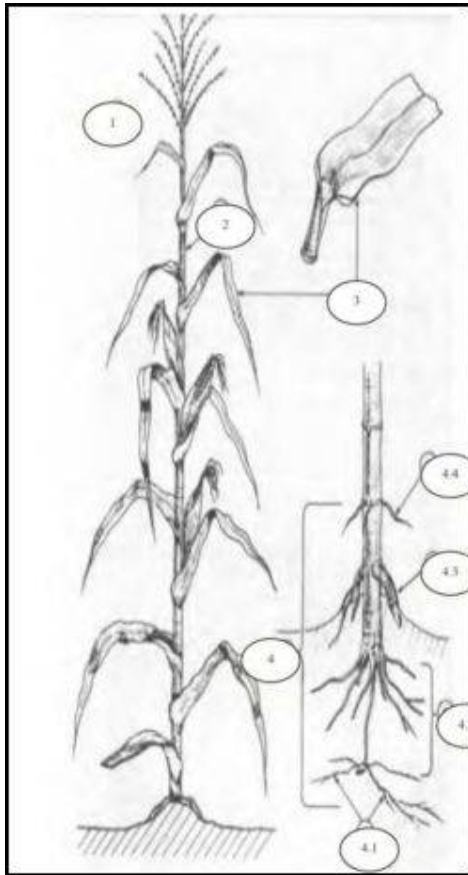
Fuente: González (1995).

## 1.1.2 Morfología

El maíz es una planta anual con gran desarrollo vegetativo, su tallo es nudoso y macizo y lleva de 15 a 30 hojas alargadas y abrasadoras, de borde áspero, finamente ciliado y algo ondulado. Es una planta monoica, es decir, lleva en cada pie de planta flores masculinas y femeninas. Las flores masculinas se agrupan en panículas (penachos o pendones)

terminales y las femeninas se reúnen en varias espigas (panojas o mazorcas) que nacen de las axilas de las hojas del tercio medio de la planta (Figura 2).

Cada flor femenina si es fecundada, dará lugar a un fruto en forma de grano, más o menos duro, lustroso, de color amarillo, púrpura o blanco, los frutos quedan agrupados formando una hilera alrededor de un eje grueso (Llanos, 1984).



**Figura 2.** Morfología del maíz.

Fuente: Parson (1991).

1. Planta. Existen variedades enanas de 40 a 60cm de altura hasta los gigantes de 200 a 300cm

2. Tallo. Es leñoso y cilíndrico. El número de nudos varía de 8 a 25, con un promedio de 16.

3. Hoja. La vaina de la hoja forma un cilindro alrededor del entrenudo, pero con los extremos desunidos. Su color usual es verde pero se pueden encontrar hojas rayadas de blanco y verde o verde y púrpura. -El número de hojas por planta varía entre 8 y 25.

4. Sistema Radicular. Lo conforman los siguientes puntos:

4.1. Raíz seminal o principal. Representada por un grupo de una a cuatro raíces, que pronto dejan de funcionar. Se originan en el embrión. Sus funciones suministran nutrientes a las semillas en las primeras dos semanas de desarrollo (Llanos, 1984).

4.2. Raíces adventicias. El sistema radicular de una planta es casi totalmente adventicio. Puede alcanzar hasta dos metros de profundidad.

4.3. Raíces de sostén o soporte. Este tipo de raíces se originan en los nudos, cerca de la superficie del suelo. Favorecen una mayor estabilidad y disminuyen los problemas de acame. Las raíces de sostén realizan la fotosíntesis.

4.4. Raíces aéreas. Son las raíces que no alcanzan el suelo (Parsons, 1991).



## 1.1.3 Fisiología

La fisiología del maíz está determinada, en gran medida, por el factor genético. La forma de crecimiento y desarrollo de la planta depende de las condiciones ambientales, sólo hasta cierto punto. Bajo condiciones apropiadas de temperatura, humedad y aireación, el maíz germina dentro de los seis días posteriores a la siembra. No requiere de luz para germinar y en general, no presenta problema de latencia (Parsons, 1991).

El cambio de la fase vegetativa a la fase productiva se produce más temprano, cuando el periodo de cultivo coincide con días cortos; durante días largos, el maíz florece tardíamente.

La floración es afectada por la temperatura. Temperaturas superiores a 30°C tienden a provocar una inflorescencia masculina más temprana que la femenina. Bajo condiciones en temperaturas menores de 20°C, la inflorescencia femenina aparece más temprano que la masculina.

La disposición floral favorece una polinización cruzada. Bajo condiciones normales, la autofecundación es alrededor de 5%. La diseminación del polen se efectúa por medio del viento, la gravedad y las abejas.

La duración del ciclo de vida del maíz depende de las condiciones genéticas, aunque también del ambiente. Periodos de sequía y temperaturas altas provocan una maduración temprana (Parsons, 1991).

El fruto –Cada parte del fruto (grano) del maíz tiene un origen hereditario distinto:

El pericarpio procede de la planta madre productora de la semilla (Llanos, 1984); el endospermo procede en sus 2/3 de la planta madre y en un tercio del padre. Resulta de la multiplicación celular que sigue a la unión del núcleo secundario (diploide: 2n) del saco embrionario con una de las dos espermias o gametos masculinos (haploide: n); el embrión o semilla contiene, a partes iguales, aportes recibidos del padre y de la madre. Se originan por multiplicación del cigoto resultante de la unión de la osfera (haploide: n) del saco embrionario, con el otro núcleo espermático (gameto masculino también haploide: n) (Llanos, 1984).

Cada una de estas partes tiene una misión funcional: el pericarpio protege la semilla; el endospermo es la reserva de la que se alimenta la nueva planta hasta que pueda empezar a sintetizar por sí misma: está formado por un 90 % de almidón, un 7 % de proteínas y cantidades menores de sustancias minerales, aceites, etc.

El embrión lo forma un eje embrionario integrado a su vez por la plúmula y la radícula (esbozos embrionarios del tallo y hojas, y de la raíz de la nueva planta); y el escutelo o cotiledón, cuya función es la de servir de reserva a la semilla y la plántula en sus primeras etapas de desarrollo. El escutelo es rico en aceites y otros productos necesarios para la activación y crecimiento de la semilla y la plántula (Llanos, 1984).

## 1.1.4 Tipos de maíz

Una clasificación común de las diferentes variedades de maíz es la siguiente:

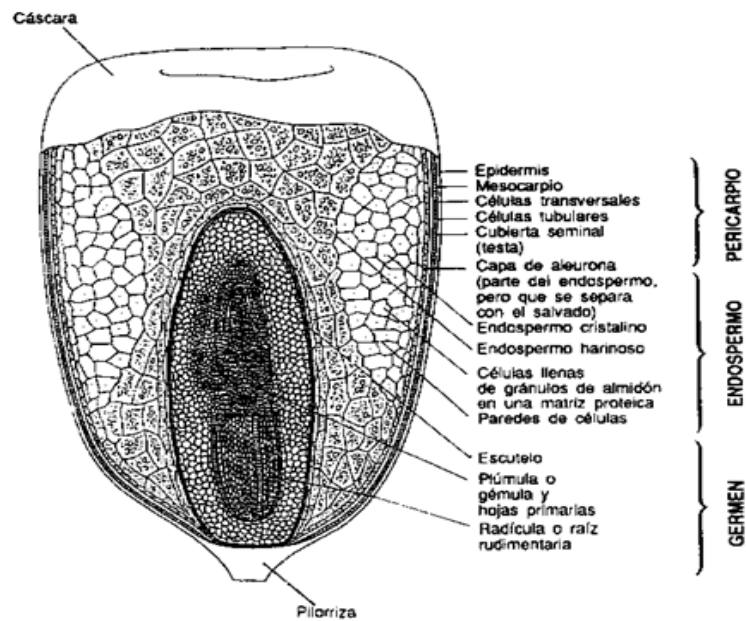
- Maíz dentado (*Zea mays indentata*). Tiene una cantidad variable de endospermo córneo (duro) y harinoso (suave). La parte córnea está a los lados y detrás del grano, mientras que la porción harinosa se localiza en la parte central y en la corona del grano. Se usa principalmente como alimento para animales, materia prima industrial y para la alimentación humana (González, 1995).
- Maíz duro (*Zea mays indurata*). Los granos de este tipo de maíz son duros, lisos y contienen poco almidón suave. El endospermo está constituido, sobre todo, de almidón duro córneo con sólo una pequeña parte de almidón al centro. Son preferidos para alimento humano y para hacer fécula de maíz. Esta menos sujeto a daño por insectos y mohos en el campo y en el almacenamiento (FAO, 2002).
- Maíz harinoso (*Zea mays amiláceo*). Está compuesto en gran parte de almidón suave y tienen pocos dientes o ninguno, muestran una gran variabilidad de color de grano y textura. Es la variedad favorita para consumo humano (FAO, 2002).
- Maíz reventón (*Zea mays everta*). Es una de las razas más primitivas y es una forma extrema de maíz cristalino. Se caracteriza por tener un endospermo cristalino muy duro, que solamente tiene una pequeña porción de endospermo harinoso (González, 1995). La humedad atrapada en la parte harinosa se expande cuando se aplica calentamiento y estalla a través de la cubierta dura, creando las palomitas de maíz (FAO, 2002).

- Maíz dulce (*Zea mays sacharata*). Se caracteriza por una apariencia traslúcida y córnea cuando está inmaduro y por una condición vítrea cuando está seco. Tiene un endospermo constituido principalmente por azúcar con muy poco almidón. Es de gran valor comercial por su utilidad como vegetal procesado (González, 1995).
- Maíz Tunicado (*Zea mays tunicata*). Cada grano está encerrado por una vaina o túnica. La mazorca está cubierta con "espatas" como los otros tipos de maíz. Se usa como ornamento o como fuente de gneroplasma en los programas de fitomejoramiento (González, 1995).

### 1.1.4.1 Estructura del grano

Lo que se llama habitualmente semilla o grano es el fruto denominado cariósipide. La parte principal de su estructura consiste en una amplia reserva de carbohidratos, el endospermo, rodeado de testa (cubierta de la semilla) y el pericarpio (pared del fruto) que están soldados. Dentro de esta cubierta exterior, antes de llegar a las células repletas de almidón del endospermo, hay una región característica que normalmente es de una sola capa de células, la capa de aleurona, rica en proteínas y en algunas especies también en grasa (Figura 3). Este tejido juega un papel importante en los procesos bioquímicos de la germinación de la semilla. Separado del endospermo por una estructura en forma de escudo, se encuentra el embrión que se diferencia en dos partes; la radícula, cubierta por una estructura protectora llamada coleoriza y la plúmula rodeada por una cubierta o coleoptilo (Langer, 1987).

El endospermo es la reserva energética del grano y ocupa hasta el 80% del peso del grano. Contiene aproximadamente 90% de almidón y 9% de proteína, y pequeñas cantidades de aceites, minerales y elementos traza. El germen contiene una pequeña planta en miniatura, además de grandes cantidades de energía en forma de aceite, el cual tiene la función de nutrir a la planta cuando comienza el período de crecimiento, así como otras muchas sustancias necesarias durante el proceso de germinación y desarrollo de la planta (Serna, 2001).



**Figura 3.** Estructura del grano de maíz corte longitudinal.

Fuente: Hosney (1991).

### 1.1.4.2 Composición química de las partes del grano

El grano de maíz maduro tiene un peso promedio de 350 mg y su composición química y física se presenta en las Tablas 2 y 3:

**Tabla 2.** Componentes del grano de maíz.

Parámetro	Porcentaje en peso seco	
	Rango	Promedio
Endospermo	80.3- 83.5	82.3
Germen	10.5 -13.1	11.5
Pericarpio	4.5 -6.2	5.3
Punta	0.8 -1.1	0.8

Fuente: González (1995).

# Ingeniería en Alimentos

**Tabla 3.** Composición química del grano de maíz y de sus componentes (valores en promedio base seca).

Componentes Químicos	Grano entero	Componentes físicos del grano de maíz			
		Endospermo	Germen	Pericarpio	Punta
Almidón	72.4	86.6	8.3	7.3	5.3
Grasa	4.7	0.86	34.4	0.98	3.8
Proteína	9.6	8.6	18.5	3.5	9.7
Cenizas	1.43	0.21	10.3	0.67	1.7
Azúcar	1.94	0.61	11.0	0.34	1.5
Fibra	2.66	-----	-----	-----	-----
Carotenoides (mg/kg)	30	-----	-----	-----	-----

Fuente: González (1995).

### 1.1.4.3 Composición química general

El grano de maíz es muy nutritivo, pues, contiene una elevada proporción de hidratos de carbono fácilmente digestibles, proteínas, grasas y muy pocas sustancias sin aprovechamiento alimenticio. En el Tabla 4 se presenta el valor nutritivo del maíz:

**Tabla 4.** Valor Nutritional del maíz.

Maíz	Valor nutritivo	Materia nitrogenada	Materia grasa	Hidratos de Carbono
	81.5	7.1	3.9	67.0

Fuente: Llanos (1984).

Su alto contenido en materia grasa lo acredita como alimento de alto poder energético, pero también impide que pueda ser almacenado por largo tiempo (Llanos, 1984).

Los componentes básicos del grano de maíz en porcentaje medio en peso de materia seca, se presenta en el Tabla 5.

**Tabla 5.** Componentes del grano de maíz.

<b>Componentes Químicos</b>	<b>(%)</b>
Carbohidratos	80
Proteínas	10
Lípidos	4.5
Fibra	3.5
Minerales	2.0

Fuente: Llanos (1984).

## **1.1.5 Producción mundial de maíz**

Estados Unidos fue el principal país productor de maíz en el mundo con 41.2% de la producción mundial (Figura 4), seguido por China que produjo 19.2%, mientras que los países de la Unión Europea y Brasil aportaron 6.9 y 6.6% respectivamente, así como de México y Argentina que produjeron 2.8 y 2.6% respectivamente (FIRA, 2011).

El Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) estima que la producción mundial de maíz 2012/13 será de 839.68 millones de toneladas y 40.7 millones de toneladas menor a lo cosechado durante 2011/12.

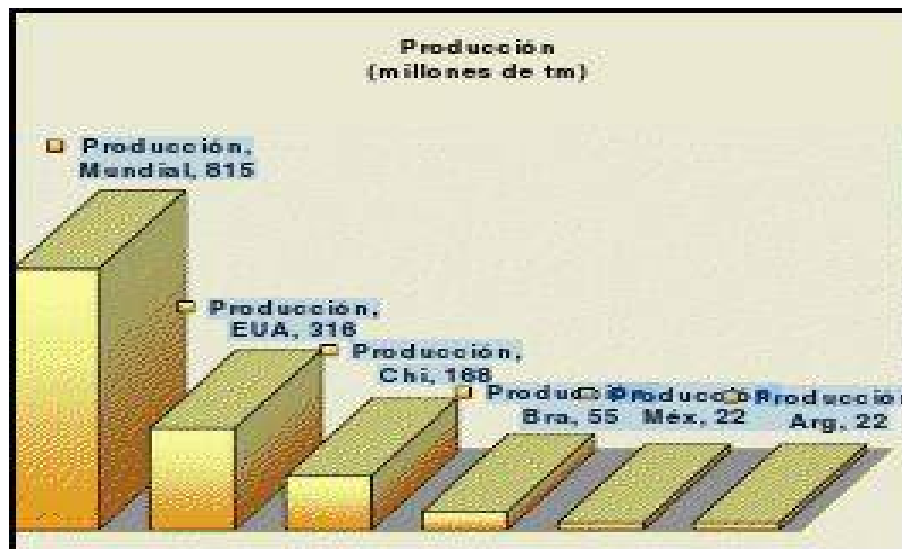


Figura 4. Países Productores de Maíz.

Fuente: SIAP (2012).

## 1.1. 6 Producción de maíz en México

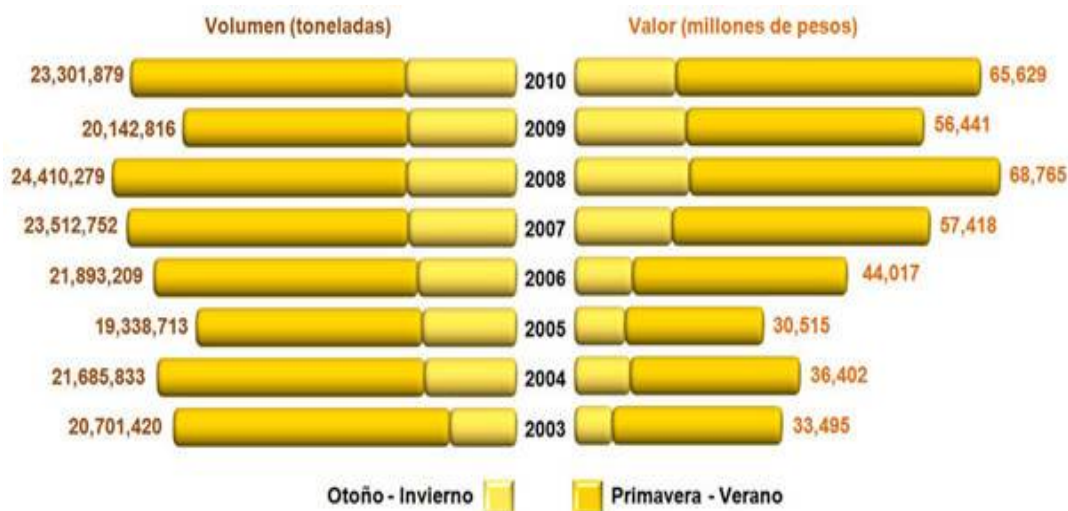
El maíz es por mucho el cultivo agrícola más importante de México, desde el punto de vista alimentario, industrial, político y social (FIRA, 2010). México produce el 2.7% del maíz en el mundo (23 millones de toneladas en 2010), siendo el 4º productor a nivel global, detrás de Estados Unidos, China y Brasil.

Nuestro rendimiento promedio por hectárea es de 3.2 toneladas (lugar 78 de 164 países que producen este grano en el mundo). El promedio mundial es de 5.2 ton/ha. (AgroDer,2011).

México es el mercado más grande de maíz en el mundo, representando el 11% del consumo mundial. Cada mexicano consume, en promedio, 123kg de maíz anualmente, cifra muy superior al promedio mundial (16.8 kg per cápita) (AgroDer, 2011).

Este grano se produce en dos ciclos productivos: primavera-verano y otoño-invierno, bajo las más diversas condiciones agro climáticas de humedad, temporal y riego.

## Estadística básica de maíz grano



**Figura 5.** Estadística de maíz en grano por ciclos productivos.

Fuente: (SAGARPA,2012).

Volumen de producción en 2010: 23 millones 301 mil 879 toneladas.

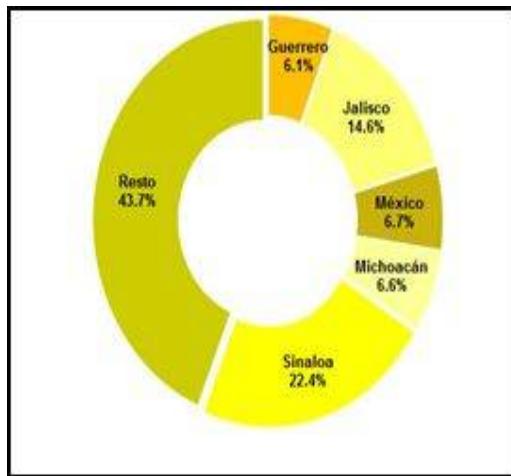
Valor 2010: 65 mil 629 millones de pesos.

Superficie sembrada: siete millones 860 mil 705 hectáreas.

Superficie cosechada: siete millones 148 mil 46 hectáreas.

En cuanto a la dispersión geográfica de la producción, el maíz se cultiva prácticamente en todo el país (Figura 6). El 68.1 % del volumen de producción se concentra en los estados de Sinaloa, Jalisco, México, Chiapas, Michoacán, Guanajuato y Guerrero. De estos estados, únicamente Sinaloa basa su producción en el ciclo Otoño-Invierno mientras que los estados de Jalisco, México, Chiapas, Michoacán, Guanajuato y Guerrero cultivan el maíz en el ciclo Primavera-Verano (FIRA, 2011).





**Figura 6.** Estados productores de maíz.

Fuente: SIAP (2011).

Por lo general, en nuestro país se hace mención principalmente de dos variedades de maíz: blanco y amarillo o forrajero. El maíz blanco se produce exclusivamente para el consumo humano, en virtud de su alto contenido nutricional; en tanto que el maíz amarillo se destina al procesamiento industrial y a la alimentación (SIAP, 2011).

Los principales estados productores de maíz blanco son (Figura 7): Sinaloa, que aporta el 23% del total; Jalisco, 13%; Michoacán, Chiapas y Guerrero contribuyen con el 7% cada uno; en conjunto, estas entidades aportaron el 57% de la producción total de 2005. Otros importantes estados en la producción de este grano son Estado de México y Guanajuato con 6% en cada caso; Veracruz, 5% y Puebla con 4% (SIAP, 2011).

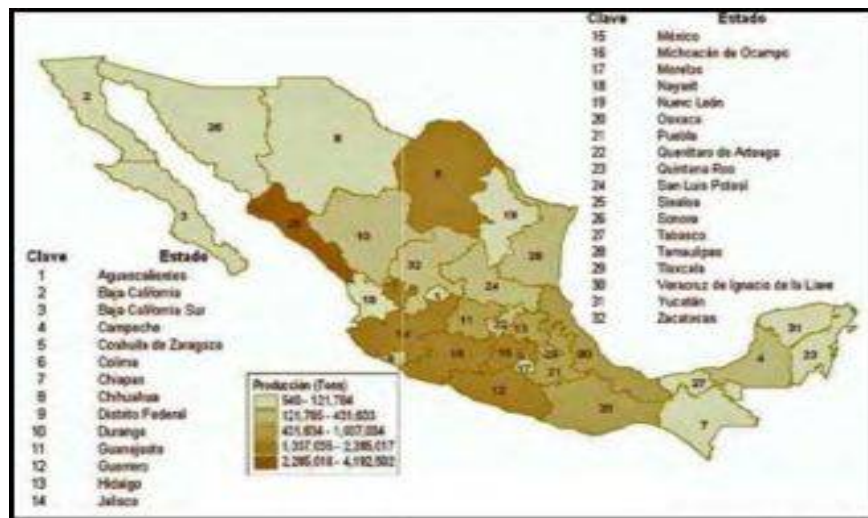


Figura 7. Principales estados productores de maíz blanco.

Fuente: SIAP (2011).

## 1.1.7 Almacenamiento

Como es físicamente imposible el consumo inmediato de la producción total de las cosechas de granos, el hombre tiene que almacenarlos para consumirlos de acuerdo con sus necesidades nutrimentales (Ramírez, 1984).

El almacenamiento puede variar desde el sencillo vertido del grano sobre el suelo, hasta el almacenamiento sobre grandes estructuras (Hoseney, 1991).

Cada grano de maíz contiene un embrión que, como ser vivo que es, respira y se alimenta a expensas de la misma materia del grano. La respiración consume oxígeno y produce anhídrido carbónico y agua con desprendimiento de calor, la destrucción de sustancias orgánicas del grano debida a la respiración y consumo del embrión a expensas de la materia del grano supone una pérdida en peso variable con las condiciones (temperatura, humedad y aireación) del almacén o silo (Llanos, 1984).

La recomendación para almacenar el maíz es que contenga máximo hasta un 7% de impurezas o grano roto permisible pero ya con riesgos muy serios respecto a su conservación (Ramírez, 1984).

De igual manera el índice de crecimiento y desarrollo de microorganismos, insectos, ácaros y la magnitud de los cambios físicos y químicos, dependen del contenido de humedad y de la temperatura del grano almacenado. La humedad es el factor más importante que se considera para un almacenamiento seguro.

Cuando el grano se almacena con exceso de humedad, es atacado por hongos e insectos, dañándolo y acelerando su descomposición.

Bajo las condiciones ecológicas de México, el maíz desgranado no se almacena por un lapso mayor a un año, si su contenido de humedad inicial excede de 13%. En las áreas húmedas como Veracruz y Tamaulipas, no es recomendable almacenarlo con una humedad mayor de 13%, y se puede encostalar con una humedad máxima de 15%. En áreas más secas, se puede almacenar con una humedad de 14% y encostalarlo con 16% de humedad como máximo (González, 1995).

## **1.1.8 Generalidades de los hongos**

### **1.1.8.1 Clasificación ecológica que invaden granos y semillas**

Todos los productos agrícolas son invadidos por diversos microorganismos mismos durante su desarrollo en el campo, 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 (Moreno, 1988).

En particular los granos y las semillas son invadidos por diversos hongos en el campo, entre ellos: *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Helminthosporium* y muchos otros que causan enfermedades a las plantas y que son transmitidas de un ciclo a otro a través de las semillas. Por otra parte, también los granos y las semillas son invadidos por hongos cuyo hábitat natural no es el campo sino el almacén, la bodega, el silo y las trojes, siendo principalmente especies de *Aspergillus* y *Penicillium*. De tal manera que los hongos presentes en los granos y semillas tradicionalmente han sido divididos en dos grupos, “hongos de campo”, “hongos de almacén” y “hongos de deterioro avanzado”; entendiéndose por almacén el sitio donde los granos se guardan para su preservación sea, un silo, una bodega o una troje (Moreno, 1988).

# Ingeniería en Alimentos

---

Los daños que causan los hongos de campo a los granos dependen en gran medida a la severidad del ataque y del hongo de que se trate (Moreno, 1988).

Si el ataque es muy severo puede prácticamente destruir el grano como frecuentemente sucede con las pudriciones de las mazorcas de maíz por especies de *Fusarium*; si el ataque no es severo el hongo permanece en la semilla sin afectarla aparentemente, y está es la forma en que muchos hongos son transmitidos por la semilla de un ciclo agrícola a otro. Para combatir a estos hongos acarreados en las semillas y evitar sus efectos nocivos al momento de la germinación en el campo o las enfermedades en el subsecuente desarrollo de la planta, se utiliza el tratamiento de las semillas con diversos fungicidas (Moreno, 1988).

Por otra parte, algunos hongos de campo ponen en peligro la salud de los animales domésticos y la del hombre, ya que cierta especie producen sustancias tóxicas, que por su origen se les ha denominado micotoxinas y micotoxicosis a las intoxicaciones que causan cuando los animales las ingieren. Entre estos hongos se encuentran algunas especies de *Fusarium*, hongo que desafortunadamente es muy común en los cultivos agrícolas, en particular en los cereales; siendo este género uno de los tres más importantes productores de micotoxinas. El combate de los hongos de campo está muy ligado al buen manejo de los cultivos durante su desarrollo, lo cual implica el empleo de variedades resistentes a enfermedades y a plagas, el uso adecuado de fertilizantes y fungicidas, la oportunidad de los riesgos y todas aquellas prácticas agrícolas que permitan el desarrollo de plantas sanas y vigorosas, y por último una cosecha a tiempo y un manejo de postcosecha adecuado.

La principal diferencia entre los “hongos de campo” y los “hongos de almacén” son los requerimientos de agua para crecer. Los hongos de campo requieren humedades relativas de 90 a 100%, en cambio los de almacén pueden crecer en humedades relativas de 65 a 90 %, condiciones de humedad muy frecuentes en el almacenamiento de granos (Moreno, 1988).

Los hongos de almacén, son principalmente especies de *Aspergillus* y *Penicillium*, las cuales causan diversos daños a los granos y semillas almacenadas, siendo los más

sobresalientes la reducción del poder germinativo de las semillas, el ennegrecimiento de los granos y la producción de micotoxinas (Moreno, 1988).

En el caso de los hongos de almacén se ha encontrado que algunas especies de *Penicillium* y *Aspergillus* invaden a los granos desde el campo. La invasión de los granos de maíz en el campo por *A. flavus* en el sureste de los Estados Unidos está relacionada con períodos de sequía y con el ataque de insectos a la mazorca; condiciones que favorecen la entrada de este hongo al hacer más susceptibles o vulnerables a los granos de maíz, situación que ratifica la calidad de parásito débil de este hongo (Moreno, 1988).

Por otra parte, el tercer grupo de hongos de granos y sus derivados, incluye aquellos que se colonizan granos y otros productos alimenticios que han sufrido un deterioro biológico previo. Estos hongos proliferan en productos almacenados en altas humedades relativas superior al 90%. Su característica biológica principal, es la de ser excelentes degradadores de materia orgánica (Moreno, 1988).

Los hongos de deterioro avanzado pueden invadir a los granos y a otros productos que han estado bajo pésimas condiciones de almacenamientos, condiciones que en ocasiones se inician en el campo; por ejemplo, cuando se dejan al alcance las mazorcas de maíz en las plantas en el campo o bien en las trojes o bodegas bajo condiciones de alta humedad, como es el caso del almacenamiento de grano forrajero a la intemperie.

Los hongos del tercer grupo, los de deterioro avanzado, prácticamente destruyen a los granos y productos que invaden debido a su alta capacidad de degradar la materia orgánica y además algunos de ellos tienen la capacidad de producir micotoxinas (Moreno, 1988).

Actualmente el combate de estos hongos sólo se logra secando los granos a niveles de humedad desfavorables para su desarrollo; a contenidos de humedad de los granos en equilibrio con humedades relativas menores del 75%. Otra manera de retardar el crecimiento de los hongos es almacenando los granos a bajas temperaturas como se hace en los bancos de germoplasma; sin embargo, el factor más importante es el contenido de humedad en los granos y de los productos almacenados, el que está en función directa de la humedad relativa del medio ambiente que los rodea, teniendo ambos, la humedad del grano y del ambiente, a equilibrarse. El contenido de agua de los productos se expresa en porcentaje con base al peso húmedo o seco del producto (Tabla 6).

# Ingeniería en Alimentos

Los microorganismos que invaden a los granos y sus derivados requieren contenidos de humedad mínimos para su desarrollo y esos requerimientos son iguales en productos con alto contenido de almidón, el caso de los cereales, o con alto contenido de aceite, como en el cacahuete y la soya (Moreno, 1988).

**Tabla 6.** Contenido de humedad en granos.

Humedad Relativa %	Avena, arroz, cebada, centeno, maíz, sorgo, trigo y triticale	Soya	Cártamo, cacahuete y girasol	Hongos
65-70	13.0-14.0	12.0-13.0	5.0-6.0	<i>Aspergillus halophilicus</i>
70-75	14.0-15.0	13.0-14.0	6.0-7.0	<i>A. restrictus</i> , <i>A. glaucus</i>
75-80	14.5-16.0	14.0-15.0	7.0-8.0	<i>A. candidus</i> , <i>A. ochraceus</i> , más lo de arriba
80-85	16.0-18.0	16.0-18.0	8.0-10.0	<i>A. flavus</i> , <i>Penicillium</i> , más lo de arriba
85-90	18.0-20.0	17.0-19.0	10.0-12.0	<i>Penicillium</i> , más los de arriba

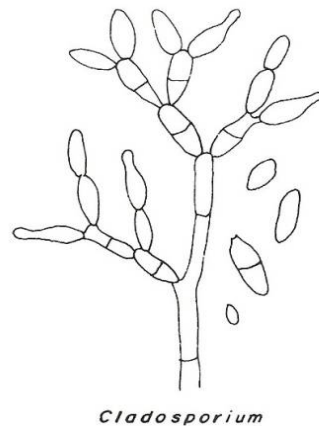
Fuente: Christensen y Sauer (1982).

\*Porcentaje de humedad con base a peso húmedo. Las cifras son aproximaciones, en la práctica se pueden esperar variaciones del 1.0%.

## 1.1.8.2 Hongos de campo presentes en el maíz

*Cladosporium* (Pers) Link. Hongo de campo, que sin embargo, se le ha encontrado en mazorcas de maíz causando su pudrición, se almacenan con altos contenidos de humedad. Tiene la capacidad de crecer a bajas temperaturas aún bajo 0°C, y por lo general se asocia con el daño causado por las heladas y el clima húmedo. Su capacidad toxígena no ha sido

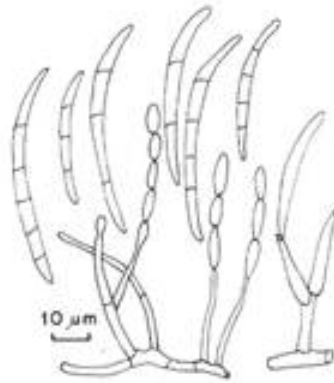
claramente definida. Presenta conidióforos largos, oscuros y ramificados, conidios de diversas formas, ovoides, cilíndricos e irregulares, algunos en forma de limón. Los conidios en cadenas simples o ramificadas (Moreno, 1988).



**Figura 8.** Cladosporium.

*Fusarium* Link. Para su desarrollo requiere actividad de agua de más de 0.90. Género que tiene muchas especies de importancia fitopatológica. Este es, junto con *Aspergillus* y *Penicillium*, uno de los géneros de hongos más importante en el desarrollo de la micotoxicosis en animales domésticos, principalmente en cerdos, ovejas, vacas, pollos y caballos. Diversas toxinas son producidas por especies de este hongo, entre ellas: los Tricotecenos y la Zearalenona. Estas especies se caracterizan por formar esporas grandes, macroconidios, curvadas y con extremos acuminados (en forma de canoa) (Moreno, 1988).

*Fusarium verticillioides* Sheld. Este es un hongo muy común que se aísla fácilmente de los granos de maíz. Este hongo infecta los tallos de las plantas de maíz y llega hasta la base de los granos, si durante la formación de la mazorca se presentan condiciones de alta humedad, los granos son deteriorados por este hongo, causando la pudrición de la mazorca. La pudrición de la mazorca de maíz causada por *F. verticillioides* se diferencia de la causada por *F. roseum* Schwabe en que esta última empieza generalmente en la punta de la mazorca y la de *F. moniliforme* se desarrolla en pintos disperso en la mazorca (Moreno, 1988).

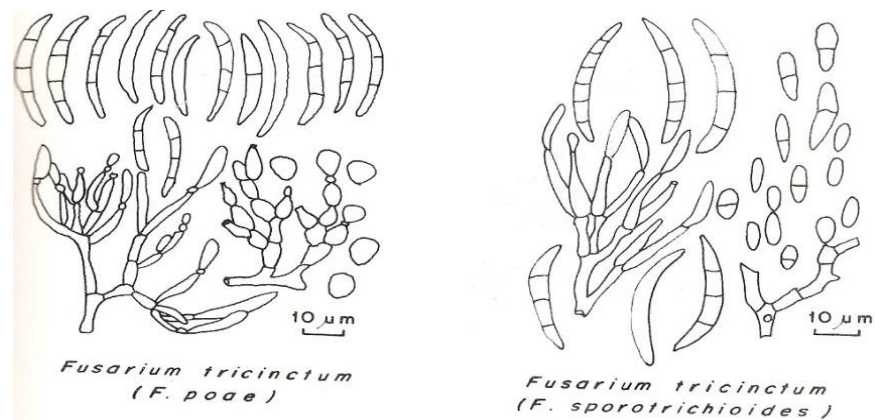


**Figura 9.** *F. verticillioides*.

*Fusarium graminearum* Schwabe. Este hongo es el productor de la zearalenona, micotoxina de gran importancia, así como de Tricotecenos. Este es un hongo de campo que causa la roña del trigo, avena y cebada; y la pudrición de la mazorca de maíz. Cuando este hongo crece en las mazorcas de maíz antes de la cosecha produce la zearalenona que además de tener efectos estrogénicos, hace que los cerdos rechacen ese maíz (Moreno, 1988).

*Fusarium tricinctum* (Corda) Sacc. Hongo de campo que causa pudriciones de mazorca. Este hongo se parece mucho a *F. graminearum* pero la presencia de microconidios lo distingue de este hongo. A menudo los cultivos de esta especie huelen a manzana. Se le considera como un hongo capaz de producir micotoxinas, entre ellas la Zearalenona y una serie de compuestos a los que se les ha llamado Tricotecenos. Las colonias son semejantes a las de *F. graminearum* (Moreno, 1988).





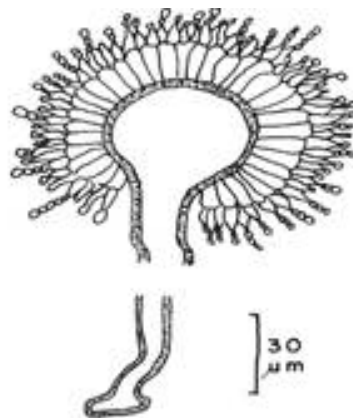
**Figura 10.** *F. tricinatum*.

*Colletotrichum graminicola*. *Colletotrichum* es un género importante de hongos que está conformado por 39 especies que causan atracnosis o tizones en una amplia gama de cultivos agrícolas y planas ornamentales.

Síntomas y gama de hospedantes. En maíz, la atracnosis es una enfermedad de importancia mundial, causada por *C. graminicola* que puede infectar todas las partes de la planta y causar síntomas en cualquier momento del ciclo de vida del cultivo. Las formas más comunes de atracnosis en el maíz son el tizón foliar y pudrición del tallo. El primero, en ataques severos restringe el crecimiento y desarrollo normal de genotipos altamente susceptibles.

### 1.1.8.3 Hongos de almacén

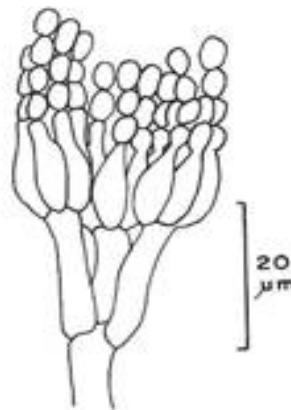
*Aspergillus flavus*. Las especies de la sección *Flavi* este requieren para crecer humedades relativas de 80-85% (actividad de agua 0.80-0.85), en cereales con contenidos de humedad de 16.5-18.0%, y en cacahuete de 8.0-10.5%. Su desarrollo contribuye al calentamiento de los granos. Algunas especies tales como, *Aspergillus parasiticus*, *A. nomius* y *A. flavus* producen aflatoxinas, metabolitos altamente tóxicos, cancerígenos y teratógenos, siendo la aflatoxina B<sub>1</sub> la más activa (Moreno, 1988).



**Figura 11.** *Aspergillus flavus*.

*Aspergillus ochraceus*. Los miembros de este grupo requieren humedades en equilibrio con una humedad relativa de 80%, no son muy comunes en los granos, ya que no son buenos competidores contra especies de *A. glaucus* y *A. candidus*; sin embargo se aíslan frecuentemente de granos de maíz. Crecen en cereales con contenido de humedad de 14.5-16.0%; en cacahuete de 7-0-8.0% (Moreno, 1988).

*Penicillium*. Hongos de almacén y de campo, Las especies que se consideran de almacén, requieren que los productos que invaden tengan contenidos de humedad en equilibrio con humedades relativas de 85-90%, alrededor de 18.0-20.0% en cereales. Estos hongos pueden crecer a temperaturas muy bajas; inclusive bajo cero, ( $-2^{\circ}\text{C}$ ). A ciertas especies se les considera hongos toxígenos. Producen pudrición de la mazorca del maíz y moho en el almacenamiento. La pudrición del grano de maíz en condiciones de humedad y temperatura elevadas puede ser importante. Se reduce la germinación y se produce tizón de las plántulas (Moreno, 1988).



**Figura 12.** *Penicillium*.

#### **1.1.8.4 Hongos de deterioro avanzado**

*Aspergillus niger* V. Tiegh. No se le considera como hongo común de almacén, sino más bien un microorganismo que coloniza productos que se encuentran en avanzado estado de deterioro. Requiere que los productos tengan contenidos de humedad en equilibrio con humedades relativas de 90-95%. Cuando se le aísla de granos que han estado almacenados con contenidos de humedad del 13-18%, lo más probable es que sean contaminaciones del medio ambiente o que la desinfección superficial de los granos fue inefectiva. De ingredientes molidos, que no se pueden desinfectar, es posible aislar este hongo u otros cuyas esporas están presentes, aun cuando se hayan desarrollado en estos productos, ya que sus conidios siempre se encuentran en las corrientes de aire (Moreno, 1988).

#### **1.1.8.5 Micotoxicosis**

Las micotoxinas (Tabla 7) son sustancias producidas por ciertos hongos, y en pequenísimas cantidades pueden ser tóxicas a los animales que las ingieren y en algunos casos lo son al estar en contacto con la piel, como es el caso de algunas toxinas de *Fusarium*. A las intoxicaciones ocasionadas por las micotoxinas se les ha denominado micotoxicosis. Dada la naturaleza microscópica de estos hongos, en la mayoría de las veces su invasión pasa inadvertida, la cual sólo puede ser determinada mediante el cultivo de los hongos en el laboratorio. Sin embargo, frecuentemente los hongos tóxicos desaparecen de los granos o productos en los que han crecido, al verse limitados por condiciones desfavorables para su crecimiento, quedando solamente las micotoxinas, lo que hace particularmente difícil verificar la calidad sanitaria de un determinado producto,

# Ingeniería en Alimentos

---

sea este grano u otra materia prima; teniendo que recurrirse a técnicas químicas y biológicas para conocer su calidad sanitaria (Moreno, 1988).

Las micotoxinas ocasionan problemas económicos al productor pecuario al afectar la salud y desarrollo de sus animales, y también al productor de alimentos balanceados al tener que indemnizar al ganadero o avicultor. Además alteran la calidad sanitaria de los granos destinados al consumo humano, originando un riesgo para la salud pública (Moreno, 1988).

## Ingeniería en Alimentos

**Tabla 7.** Algunas micotoxinas producidas por especies de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*.

Aspergillus		Penicillium		Fusarium	
Especie	Micotoxinas	Especie	Micotoxinas	Especie	Micotoxinas
<i>A.chevalieri</i>	Xantocilina	<i>P. cyclopium</i>	Ácido penicílico Ocratoxina	<i>F. avenaceum</i>	Tricotecenos Zearalenona
<i>A.clavatus</i>	Patulina	<i>P. expansum</i>	Patulina Citrinina	<i>F. culmorum</i>	Tricotecenos Zearalenona
<i>A.fumigatus</i>	Viriditoxina Gliotoxina Fumagilina	<i>P. islandicum</i>	Islanditoxina	<i>F. equiseti</i>	Tricotecenos Zearalenona Moniliformina
<i>A.niger</i>	Malformina Ácido oxálico	<i>P. purpurogenum</i>	Rubratoxinas	<i>F. graminearum</i>	Zearalenona Tricotecenos
<i>A.ochraceus</i>	Ocratoxinas Ácido penicílico	<i>P. viridicatum</i>	Ocratoxinas Viridicatina Citrinina	<i>F. moliniiforme</i>	Moniliformina Zearalenona Fusarina
<i>A.versicolor</i>	Esterigmatocistina			<i>F. oxysporum</i>	Zearalenona Moniliformina

Fuente: (Moreno, 1988).

Dentro de una determinada especie de hongo, diferentes cepas o aislamientos difieren en su capacidad toxígena; esto dificulta en la práctica la detección de materiales sospechosos de contener micotoxinas, por ejemplo, las aflatoxinas, ya que la presencia de *A. flavus* en una

determinada materia prima no es concluyente de la presencia de aflatoxinas y mucho menos del nivel de contaminación; ni tampoco la ausencia del hongo elimina la posibilidad de que no existan aflatoxinas, ya que éste pudo haber desaparecido y las aflatoxinas, sustancia estables, permanecen por largos periodos, poniendo en riesgo la salud (Moreno, 1988).

Para su desarrollo, los hongos requieren de humedad en el substrato, temperatura adecuada, oxígeno y tiempo. Afortunadamente, no siempre las condiciones que le permiten tener un crecimiento vegetativo son las condiciones que se requieren para la producción de toxinas, ya que estos productos del metabolismo secundario de los hongos se generan bajo condiciones más específicas que las requeridas para el crecimiento vegetativo. Parece ser que la temperatura es el factor más importante en la inducción de la producción de micotoxinas, seguido del substrato (Moreno, 1988).

El análisis de las micotoxinas comprende una serie de pasos que se inician con el muestreo, la extracción de la toxina, el proceso de purificación, la separación, la identificación y cuantificación de la toxina y por último las pruebas confirmatorias (Moreno, 1988).

La principal dificultad en el muestreo de granos o productos sospechosos de contaminación por micotoxinas es que éstas no se encuentran distribuidas uniformemente en el lote por muestrear. Se ha encontrado que entre más grande sea el tamaño de la partícula del producto por muestrear, más grande debe ser la muestra del lote (Moreno, 1988).

Actualmente se estima que el 25% de los cereales del mundo están contaminados con micotoxinas conocidas. No existe región alguna en todo el mundo que escape a la contaminación por micotoxinas y a su impacto negativo en la producción animal y la salud humana (Reyes, et al., 2000).

Las micotoxinas involucradas en la cadena alimenticia pertenecen principalmente a tres géneros: *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*. Las especies de *Fusarium* producen micotoxinas y son consideradas patógenas destructoras de plantas, presentándose inmediatamente en la postcosecha. *Penicillium* y *Aspergillus* son comúnmente encontradas como contaminantes de diversos productos alimenticios (Sweeney and Dobson, 1998).

El término Aflatoxina, es una palabra compuesta que deriva “A” del género *Aspergillus*, las letras “FLA” por la especie *flavus* y el término toxina, denota envenenamiento.

La biosíntesis y el nivel de producción de aflatoxinas está influenciada por la composición de los nutrimentos en donde crecen los hongos, se ha observado que los azúcares como glucosa, fructuosa y sacarosa, incrementan la biosíntesis de aflatoxinas en el caso de *Aspergillus flavus*, en tanto que la manosa y la xilosa estimulan la producción de aflatoxinas en *A. parasiticus*, pero las inhiben en *A. flavus* (Ellis, et al, 1991).

### **1.1.8.6 Micosis en el hombre y animales**

Las aflatoxinas, son acumulables en productos como leche, queso, así como en órganos tales como hígado y riñón.

La alta toxicidad de estas toxinas, ocasiona que aun la presencia de bajos niveles de estos compuestos sea motivo para indicar riesgo de salud. El grado de toxicidad varía de acuerdo con la especie afectada por lo que las dosis letales en animales son variables (Peña y Duran, 1990).

Los hongos de este género, tienen gran potencial biótico y son degradadores activos del material orgánico y en consecuencia muy útiles en la ecología del planeta. Sin embargo, causan enfermedades en el humano y animales por tres mecanismos diferentes:

- a) Hipersensibilidad: Esta puede ser congénita y en estos casos *Aspergillus* sólo actúa como lo harían otros antígenos ambientales por ejemplo, polvo o pólenes ocasionando desde una rinitis alérgica, hasta un asma crónico severo, los pacientes tienen concentración elevada de IgE. En otros casos, las personas pueden hacerse hipersensibles a los hongos de este género, si trabajan en sitios con altos niveles de contaminación por el agente, como puede ocurrir en los silos donde se almacenan granos en malas condiciones de humedad y temperatura, en estos casos se incrementa la concentración de IgG.
- b) Intoxicación por ingesta de metabolitos fúngicos (micotoxicosis): En estos casos, sustancias como las aflatoxinas producidas durante el crecimiento de *A. flavus* cuando se desarrolla abundantemente sobre alimentos, puede causar daños a diversos órganos, aun cuando al momento de la ingesta, el hongo ya no esté presente. Se ha demostrado el potencial hepatotóxico y cancerígeno de muchos metabolitos como las aflatoxinas y

ocratoxinas de diversas especies de *Aspergillus*; y otras como la gliotoxina en estudios de laboratorio ha mostrado tener un efecto inmunosupresor (Méndez, 2011).

c) Invasión (micosis): El sufijo “osis” se refiere a enfermedad o invasión, como en todas las infecciones, se substituye la última sílaba por el sufijo y entonces cuando decimos aspergilosis nos referimos a la invasión de tejidos y órganos por hongos de este género. Los hongos del género *Aspergillus*, son capaces de invadir porque producen diversas enzimas inducidas como lipasas o proteasas, elastasas o DNAsas. A pesar de la diversidad de sustancias potencialmente patógenas, las infecciones humanas generalmente requieren de factores predisponente (Méndez, 2011).

## **1.1.9 Generalidades de las películas y recubrimientos comestibles**

### **1.1.9.1 Historia**

El uso de recubrimientos para frutas y hortalizas es una práctica antigua que se desarrolló para imitar las cubiertas naturales de los productos vegetales comestibles. Las películas de proteína de soya han sido producidas en China desde hace 2000 años. En el siglo XIX se emplearon películas de gelatina para la conservación de carne y otros alimentos. En el siglo XX ya se encontraban comercialmente disponibles ceras parafina que se derretían con calor para el recubrimiento de cítricos, y a mediados de ese siglo se desarrollaron emulsiones aceite-agua con cera de carnauba para el recubrimiento de frutas y hortalizas frescas (Chen, 1995).

Las patentes en películas comestibles para extender la vida de anaquel de alimentos datan de 1950, comprendiendo películas para carne congelada, aves y productos del mar; usando alginatos, grasas, gomas y almidones. Desde entonces la investigación se está orientando hacia el desarrollo de recubrimientos específicos para determinado tipo de alimento (Guilbert, et. al., 1996).

### **1.1.9.2 Importancia de los biopolímeros**

Se sabe que mercancías agrícolas de bajo costo y productos del mar, comúnmente encontrados en países desarrollados, producen grandes cantidades de excedentes y desechos que son fuentes subutilizadas de biopolímeros (García, et. al., 2004).



Las películas elaboradas de materias biodegradables pueden emplearse como materiales de empaque para generar una atmósfera modificada alrededor de un producto empacado, y pueden reemplazar plásticos no biodegradables usados actualmente en el almacenamiento (Guilbert y Biquet, 2005).

La consideración de películas de biopolímeros para empaques y unas aplicaciones tiene más sentido cuando la recuperación de empaques de plástico sintéticos convencionales es difícil (Krochta, 2002).

La manufactura de empaques con biopolímeros es considerablemente más costosa que la producción de empaques tradicionales, pero los consumidores probablemente lleguen a pagar más por productos amigables con el medio ambiente (Garnica, 2001).

### 1.1.9.3 Definiciones

**Las películas** son estructuras del polímero que se forman independientemente y que permanecen separadas de cualquier intención de uso.

**Las cubiertas** involucran la formación de una estructura del polímero, directamente en la superficie del objeto que se pretende proteger o mejorar de alguna manera. En este sentido, las cubiertas llegan a ser parte del producto y permanecen en él durante su uso y consumo (Krochta, 2002).

Las películas y cubiertas pueden ser de dos tipos: comestibles, o simplemente biodegradables, como se explica a continuación:

**Cubiertas y películas comestibles:** son capas delgadas preparadas a partir de material comestible que actúan como una barrera a los elementos externos (factores como humedad, aceite, vapor), y de esta manera, protegen al producto y prolongan su vida de anaquel.

El principal beneficio de las cubiertas comestibles es que pueden consumirse con el alimento, proveer de nutrimentos adicionales, mejorar las características sensoriales e incluir antimicrobianos que elevan la calidad. Debido a que pueden consumirse, la composición de las películas o cubiertas comestibles debe ajustarse a las regulaciones que se aplican en alimentos (Guilbert, et. al., 1996).

Las películas y cubiertas biodegradables pueden funcionar como barreras a la humedad, al oxígeno, al sabor, al aroma, y/o proteger del medio ambiente la calidad del alimento y otros productos. En contraste con las películas y cubiertas comestibles, la intención de la película cubierta biodegradable, generalmente es reemplazar totalmente el empaque u otro producto sintético convencional. Puede ser que una película o cubierta biodegradable necesite proveer algún mecanismo de protección para un alimento, una droga, u otro producto (Krochta, 2002).

**Películas comestibles y Películas biodegradables para alimentos:** Las películas comestibles son aquellas elaboradas con sustancias poliméricas naturales de composición heterogénea, las cuales pueden ser ingeridas sin riesgo para el consumidor y que le aportan algunos nutrientes tales como: proteínas, almidones, gomas, pectinas, alginatos, entre otros (Hoyos y Urrego, 1997).

#### **1.1.9.4 Formulaciones**

La formulación de películas flexibles a partir de hidrocoloides requiere dos ingredientes esenciales: un material polimérico formador de la película que provee la matriz estructural un plastificante, como un poliol de peso molecular bajo, el cual imparte flexibilidad. Las películas basadas en proteínas tienen pobres propiedades de barrera al vapor de agua pero son más resistentes a la transferencia de oxígeno que las películas que son preparadas a partir de polisacáridos (Cuq, et. al., 1995).

Las películas comestibles a base de polisacáridos incluyen las que son a base de celulosa y sus derivados, quitosán, almidones, dextrinas, alginatos, carragenina y pectina. Debido a su relativa insolubilidad, en estado natural, la celulosa y la quitina son químicamente tratadas para incrementar su solubilidad en agua (Butler, et. al., 1996, García, et. al., 2004). El mecanismo principal en la formación de las películas de polisacáridos es la disgregación de segmentos del polímero y reformación de la cadena dentro de la matriz o gel de la película (Butler, et. al., 1996).

Los lípidos son los más eficientes como barreras a la humedad debido a su carácter hidrofóbico (Chang, et. al., 2000).

El quitosán es de interés potencial como base de películas biodegradables porque tiene excelentes propiedades de barrera al oxígeno y contra los mohos (García, et. al, 2004). Las películas de quitosán son quebradizas debido a intensas fuerzas intermoleculares, pero dicha desventaja se puede superar con la adición de un plastificante en la formulación, aunque es bien sabido que estos materiales alteran la permeabilidad al vapor de agua de películas hidrofílicas. Los puentes de hidrógeno presentes en el quitosán lo hacen sensible al agua. Por ello la necesidad de aumentar la resistencia al agua sin perder su propiedad de biodegradarse, por lo que se adicionan ácidos grasos integrados en surfactantes a las películas para mejorar sus propiedades de barrera (Garnica, 2001). Las películas compuestas pueden diseñarse para tomar ventajas de los componentes puros. Para los polímeros sintéticos, las propiedades mecánicas y de barrera de películas biológicas compuestas dependen fuertemente de las características de los polímeros que las constituyen y su compatibilidad.

### **1.1.9.5 Materias primas de las películas comestibles y/o biodegradables**

Algunas de las materias primas que se utilizan en la actualidad para la elaboración de películas comestibles y/o biodegradables son: almidones (Guilbert y Biquet, 2005), alginatos (Banker, 1996), pectinas, quitosán (Paredes, 1994), etc.

### **1.1.9.6 Plastificantes**

Un plastificante se define como una sustancia no volátil, la cual es añadida a otro material.

El plastificante reduce las fuerzas intermoleculares a lo largo de la cadena polimérica. Sus grupos polares (OH) desarrollan puentes de hidrógeno a lo largo de la cadena polimérica reemplazando las interacciones polímero-polímero (Chen, 1995).

Los plastificantes no solo proveen de propiedades mecánicas a la película, sino también la permeabilidad del mismo dado que la movilidad de la cadena aumenta, los coeficientes de difusión también se acrecientan, además de que crece la sorción de moléculas polares tales como el agua, resultando en altas permeabilidades al vapor de agua (Garnica, 2001).

Los plastificantes cubren una amplia gama de compuestos químicos, los compuestos tales como el glicerol, sorbitol y polietilenglicol son ampliamente usados. El sorbitol y glicerol son humectantes, y parte de su acción de plastificación se debe a su habilidad para detener

agua, dichas moléculas de agua actúan como plastificante, que es el más común y el más difícil de regular en películas hidrofílicas (Chen, 1995). El glicerol es el más ampliamente reportado en la literatura como el mejor plastificante, esto puede verse reflejado dado su hidrofiliidad y peso molecular respecto a los demás plastificantes. La hidrofiliidad de estos compuestos está en el siguiente orden: glicerol> sorbitol> polietilenglicol>glicerina (Garnica, 2001).

## **1.1.9.7 Propiedades de las Películas**

Las características mecánicas de las películas deben ser suficientemente buenas para mantener la integridad a través de su producción y prácticas de manejo, dado que las fracturas pueden destruir las propiedades de barrera (Chen, 1995).

Las películas comestibles y/o biodegradables no siempre reemplazan los empaques sintéticos, sino que racionalizan su utilización, además prolongan el estado de frescura de frutos y vegetales y el tiempo de vida útil de los alimentos y mejoran la eficiencia económica de los materiales de empaque.

Las propiedades funcionales de las películas comestibles y/o biodegradables son iguales a las de los empaques no biodegradables o sintéticos. Entre las principales se tienen que actúan como barreras a la humedad, oxígeno y dióxido de carbono. La permeabilidad de las películas o cubiertas comestibles se relacionan con la resistencia a los gases, al vapor de agua y al transporte de solutos (Evans y Sikdar, 1990).

## **1.1.9.8 Requerimientos para utilizar las películas y recubrimientos**

Las películas y recubrimientos comestibles deben cubrir los siguientes requerimientos para poder ser utilizados en alimentos (McHugh y Kronchta, 1994):

- Buenas cualidades sensoriales
- Eficiencia mecánica y gran capacidad de barrera
- Suficiente estabilidad bioquímica, física y microbiológica
- Libre de tóxicos y seguros para la salud
- Tecnología simple de fabricación y aplicación
- No contaminante
- Bajo costo como materia prima y proceso.

## **1.1.9.9 Aplicaciones en Alimentos**

Las películas comestibles pueden mejorar las propiedades funcionales de los alimentos. Pueden utilizarse para proteger piezas pequeñas o porciones de alimentos. Las películas y cubiertas comestibles han mostrado ser barreras potenciales para transferencia a la humedad, oxígeno, dióxido de carbono, lípidos, aromas y compuestos de sabor en sistemas alimenticios (Chick y Hernández, 2002). También pueden usarse como transportes de antioxidantes, antimicrobianos, saborizantes y pigmentos; como material de cubierta para nueces y frutas; para prevenir la migración de humedad en alimentos multicomponentes tales como las pizzas, sándwich, pasteles de frutas, dulces (Bosquez, et. al., 2000), pastas de humedad intermedia, pasta de aderezos, helado en cono, repostería con frutas, chocolate o dulces duros con centro líquido, queso y galletas (Garnica, 2001).

Los usos de cubiertas comestibles también incluyen la aplicación en frutas y vegetales frescos; nueces, cereales y productos de cereales (Vachón, et. al., 2003).

## **1.1.10 Generalidades de la quitina y el quitosán**

### **1.1.10.1 Quitina y quitosán**

La producción de crustáceos (camarón, cangrejo, langosta, entre otros), se ha incrementado enormemente en los últimos años. México ocupa el séptimo lugar como país camaronero a nivel mundial, con una producción de 80 mil toneladas de camarón de las cuales, el 30% están conformadas por los desechos de caparazón (Miranda, 2000).

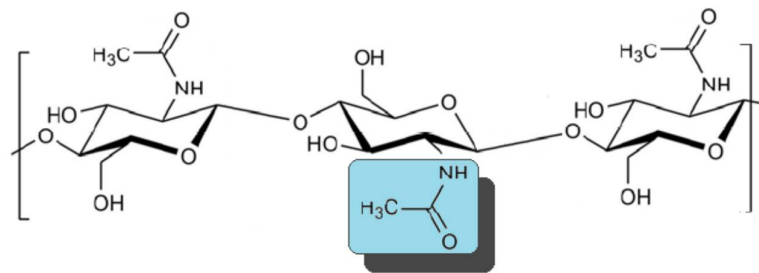
De los caparazones desechados durante la pesca de crustáceos se obtienen grandes cantidades de “quitina”, sustancia con propiedades antimicrobianas (Miranda, 2000).

La quitina es un polímero natural que se clasifica dentro del tipo polisacárido, considerado a menudo como un derivado de la celulosa por sus características, pero con ciertas diferencias en su estructura molecular. El quitosán es el derivado de la quitina, este es un polímero con propiedades tales como biocompatibilidad, biodegradabilidad, toxicidad nula, etc. (Lárez, 2006).

La quitina y el quitosán son polímeros naturales muy antiguos en lo que se refiere a su aparición en la tierra pero muy actuales en cuanto a sus posibilidades de aplicación (Lárez, 2006).

Quitina (del griego tunic, envoltura) se encuentra distribuida en la naturaleza y, después de la celulosa, es el segundo polisacárido en abundancia. Sus fuentes principales el exoesqueleto (caparazón), de muchos crustáceos, alas de insectos (escarabajos y cucarachas), paredes celulares de hongos, algas (Shahidi, et. al., 1999).

La quitina es blanca, dura, inelástica. Se conoce como 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa con uniones  $\beta$  (1-4) (Shahidi, et. al., 1999).

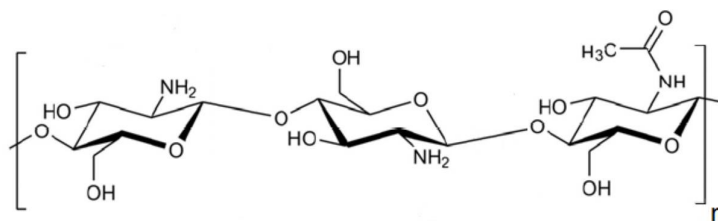


**Figura 13.** Estructura química de la quitina (Berghoff, 2011).

En este biopolímero los grupos aminos se encuentran acetilados, por lo que la quitina corresponde a una amida de ácido acético (Shahidi, et. al., 1999).

El quitosán es un derivado de la quitina mediante un proceso de desacetilación química o enzimática extraída de exoesqueletos de camarón (Lárez, 2006).

Es un sólido blanco amorfo, insoluble en agua, soluble en ácidos. Químicamente es un poli ( $\beta$ -N-acetil-glucosamina-co- $\beta$ -glucosamina). Debido a que hay una desacetilación a partir de la quitina en la que los grupos acetilo han sido eliminados, por consiguiente en el quitosán el grupo amino se encuentra libre como amina primaria (Lárez, 2006).



**Figura 14.** Estructura química del quitosán (Berghoff, 2011).

El quitosán es un polielectrólito a pH ácido, presenta una alta densidad de carga por unidad de glucosamina, interactúa fuertemente con muchos materiales que portan cargas negativas como: proteínas, polisacáridos aniónicos, ácidos nucleicos. Por lo tanto una de las propiedades es que tienen una mejor actividad antimicrobiana que la quitina, debido a la carga positiva en el carbono 2 del monómero de la glucosamina (Lárez, 2006).

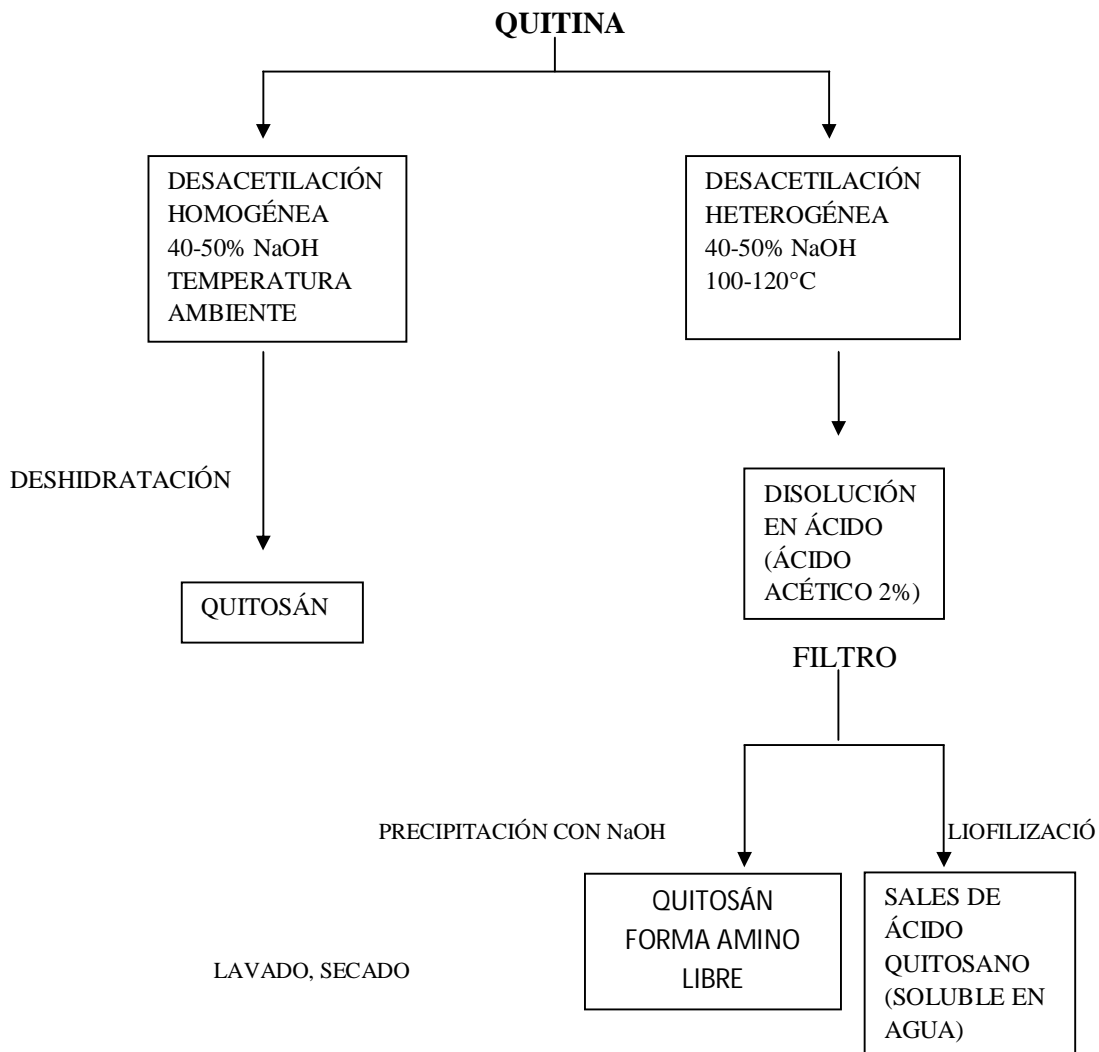
## **1.1.10.2 Procesamiento de la Quitina y Quitosán**

La materia prima que más abunda en la producción de quitina es la que se obtiene a partir de los exoesqueletos de crustáceos, principalmente del cangrejo, del camarón y del langostino, donde la quitina forma parte de un sistema complejo, asociada con carbonatos de calcio, proteínas y otras sustancias orgánicas (pigmentos) (Morales, et. al., 2001).

En el proceso general de obtención de quitosán se ha identificado tres pasos importantes: desmineralización con ácido diluido, desproteinización con alcalinos diluidos y con un calentamiento moderado para purificar la quitina y finalmente una desacetilación (Wu, et. al., 1978), donde los grupos acetilo son eliminados y el grupo amino se encuentra libre como amina primaria (Morales, et. al., 2001).

En la producción de quitosán, la quitina es tratada, primero, con una solución muy fuerte de hidróxido de sodio para desesterificar las uniones de acetil-N. El proceso de desacetilación se lleva a cabo ya sea a temperatura ambiente (desacetilación homogénea) o a elevadas temperaturas (desacetilación heterogénea), dependiendo de la naturaleza del producto final deseado. Sin embargo, este último, se utiliza para propósitos industriales (Rudrapatman, et. al., 2003).

Otro de los métodos para preparar quitosán con una pureza mejorada es el que consiste en disolver la materia en ácido (ácido acético) y filtrarlo para remover materiales extraños. El producto purificado es entonces liofilizado para obtener una sal ácida de quitosán soluble en agua o también, puede ser precipitado con NaOH, lavado y secado para obtener un producto libre de formas amino (Rudrapatman, et. al., 2003).



**Figura 15.** Proceso de Elaboración de quitosán (Rudrapatman, et. al, 2003).

### 1.1.10.3 Degradación de Quitosán

Algunos métodos para la degradación del quitosán son la hidrólisis ácida y la hidrólisis enzimática.

La degradación de quitosán utilizando peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) ha sido ampliamente estudiada, este método es fácil y no peligroso. Sin embargo, este cambia la estructura del quitosán especialmente de él anillo glucosídico cuando el  $H_2O_2$  se usa excesiva a altas temperaturas. Por otro lado, la irradiación de la degradación inducida por el quitosán ha obtenido una considerable atención debido a sus ventajas: el proceso es fiable, se lleva a cabo a temperatura ambiente y se puede aplicar en gran escala (Hien, et. al., 2012).



Una cuestión importante hasta ahora ha sido la falta de coherencia en las propiedades del biopolímero y los métodos usados para determinar sus propiedades.

Las dos determinantes más importantes de las propiedades estructurales de la quitina son el grado de acetilación (DA) o grado de desacetilación (DD) y el peso molecular. El grado de acetilación o desacetilación identifica el biopolímero como quitina o quitosán, mientras que el peso molecular determina la viscosidad y la velocidad de degradación. La proteína residual, contenido de humedad, contenido de cenizas, lípidos, metales pesados, impurezas y color son otras propiedades comúnmente reportadas. Los métodos de caracterización usados para determinar esas propiedades también se encuentran en un amplio rango, desde los métodos económicos para control de calidad de rutina hasta los de instrumentación costosa para obtener información especializada y sofisticada. Se debe tener en mente que como los otros polímeros las propiedades de la quitina y quitosán son un promedio de la contribución de todas las cadenas en la muestra del polímero. La falta de homogeneidad debida a las diversas fuentes, complican la confiabilidad de los distintos métodos.

Algunos métodos establecidos para la caracterización listados en el libro de la quitina (Various authors. in Chitin Handbook, R.A.A. Muzzarelli, M.G. Peters, eds., Atec. Edizioni, Italy 1997). El peso molecular de la quitina y quitosán pueden ser determinados por viscosimetría, dispersión de luz y cromatografía de penetración en gel, teniendo en cuenta que son requeridos diferentes solventes para quitina y quitosán. El grado de desacetilación por titulación meta cromática, absorción de colorante y con espectroscopia infrarroja. El grado de acetilación puede ser obtenido por un primer derivado de la espectrofotometría ultravioleta, espectrometría infrarroja, métodos cromatográficos y enzimáticos así como resonancia magnética nuclear NMR. Finalmente, la NMR también puede ser usada como instrumento para ver la estructura molecular. Cabe mencionar que los diferentes métodos antes mencionados son para determinaciones para investigación y utilidad general.

#### **1.1.10.4 Grado de Acetilación (DA)/ Desacetilación (DD)**

El DA es el número de unidades de glucopiranosas de la cadena del biopolímero teniendo los grupos acetilo adjuntos a esta. El DA es la propiedad clave para la influencia de las propiedades químicas y físicas de la quitina y quitosán como son la solubilidad, reactividad química y biodegradabilidad así como sus aplicaciones.

El quitosán con un menor DA exhibe propiedades biológicas mucho más diversas que el quitosán que posee una mayor DA. La solubilidad aumenta con un incremento en el grupo amino libre y / o una disminución en el DA. Este parámetro de la quitina y del quitosán es el más importante que influye en sus diversas propiedades, incluidas las propiedades biológicas, físico-química y mecánica. El conocimiento de este es muy importante para aprovechar al máximo las aplicaciones de quitosán. No hay técnica única que puede medir el DA con una alta precisión. Por ejemplo, el análisis elemental, la hidrólisis ácida o enzimática seguida por colorimetría o análisis por HPLC, análisis térmico usando DSC, e IR.

Los resultados obtenidos para DA pueden cambiar dependiendo de la naturaleza y el nivel de impurezas, la fuente y morfología del polímero. Por lo tanto, el conocimiento previo sobre el contenido de agua y las impurezas daría datos más precisos para la DA. El problema más complicado para la determinación del DA está relacionado con la escasa solubilidad de la quitina y el quitosán (Kasaai, 2008).

La quitina forma una cadena lineal, los grupos hidroxilo en la quitina contribuyen a formar fuertes enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares. Además, tanto las interacciones hidrofóbicas e hidrofílicas puede ocurrir entre las macromoléculas de las cadenas. La linealidad de la quitina hace fácil para que las moléculas puedan producir grandes fuerzas intermoleculares y los resultados en un alto grado de cristalinidad (Kasaai, 2008).

### **1.1.10.5 Actividad antimicrobiana del quitosán**

El quitosán, un polímero catiónico es un agente conocido por su actividad antifúngica (Bhaskara, et. al., 1999). La creciente demanda de alimentos sin conservadores químicos ha centrado sus esfuerzos en el descubrimiento de nuevos antimicrobianos naturales. En este contexto la actividad antimicrobiana inusual de la quitina, quitosán y sus derivados contra los diferentes grupos de microorganismos tales como las bacterias, los hongos filamentosos y las levaduras, han recibido una considerable atención en años recientes (Rudrapatnam, et. al., 2003).

Se ha demostrado que el quitosán reduce el crecimiento *in vitro* de diversos hongos con la excepción de los Zygomycota es decir, grupo de hongos que contienen quitosán como componente principal de su pared celular. Además de la formación de películas permeables

al gas, su interferencia directa en el crecimiento fúngico y la activación de varios procesos de defensa, como la acumulación de la quitinasa (Rudrapatnam, et. al., 2003). Del mismo modo en otro estudio *in vitro* el quitosán, inhibió el crecimiento fúngico significativamente más que la quitina. Sin embargo algunas especies fúngicas fueron menos sensibles al crecimiento de todas las especies excepto aquellos que contienen quitosán como constituyente de la pared fue afectado (Leuba, et. al., 1986).

La explicación de este efecto la definen en términos de que el quitosán con sus grupos amino cargados positivamente interactúan con los grupos fosfato negativos de los ácidos nucleicos del material genético de los hongos, en especial cuando los polímeros de quitosán tienen 7 unidades inhibiendo el crecimiento de los hongos (Galvez, 2001).

El quitosán ha sido utilizado como componente antimicrobiano por su aplicación externa (exógena) en el hospedero, en el sustrato o medio y en una superficie física que contenga una población microbiana. La quitosana y la quitinasa se han inducido en las plantas como mecanismos de resistencia contra los patógenos, especialmente hongos (Cuero, 1999).

Además de la naturaleza y/o estructura fisicoquímica del quitosán, muchas otras cualidades específicas, inherentes al hospedero y/o sustrato que pueden influir en la actividad antimicrobiana del polímero, incluyen las condiciones ambientales como la temperatura, humedad, composición de nutrimentos, pH y actividad de agua (Cuero, 1999).

El quitosán se ha investigado como un material antimicrobiano contra una amplia gama de organismos diana como las algas, bacterias, levaduras y hongos en los experimentos que implican *in vivo* e *in vitro*. Interacciones con quitosán en diferentes formas (soluciones, películas y materiales compuestos) generalmente, en estos estudios el quitosán se considera un bactericida (mata las bacterias vivas o alguna fracción en él) o bacteriostático (impide el crecimiento de bacterias, pero no implica destrucción de ellas), a menudo sin distinción entre las actividades. Datos recientes en la literatura tienen la tendencia a caracterizar al quitosán como bacteriostático en lugar de bactericida, aunque el mecanismo exacto no se entiende completamente y varios otros factores pueden contribuir a los modelos de acción. Tres modelos antibacterianos se han propuesto, siendo la más aceptable la interacción entre moléculas cargadas positivamente de la quitina y el quitosán con las cargadas negativamente de las membranas de células microbianas. En este modelo, la interacción

está mediada por las fuerzas electrostáticas entre el protonadas  $\text{NH}^+$  y los residuos negativos para los sitios de la superficie de la membrana, presumiblemente compitiendo con grupos y esto se traduce en la interacción electrostática doble interferencia:

1) mediante la promoción de los cambios en las propiedades de permeabilidad de la membrana de la pared, por lo tanto provocan internos desequilibrios osmóticos y en consecuencia inhibir el crecimiento de microorganismos

2) mediante la hidrólisis de los peptidoglicanos en la pared del microorganismo, que conduce a la fuga de electrolitos intracelulares en forma de iones de potasio y otros componentes de bajo peso molecular proteicos (por ejemplo, proteínas, ácidos nucleicos, la glucosa y lactato deshidrogenasa).

Fue posible observar e identificar las moléculas de quitosán unidos en las superficies celulares de las bacterias. La separación genera iones y una expulsión de agua, provocando disminuciones en la presión interna de las bacterias, se sugiere que el quitosán tiene mayor actividad que la encontrada para la quitina y esto ha sido confirmado experimentalmente.

Hay muchos estudios sobre la concentración mínima inhibitoria (CMI) para la quitina, quitosán y sus derivados o combinaciones, con resultados diferentes para microorganismos diferentes (Goy, et. al., 2009).

Hay dos tipos de mecanismos propuestos para la inhibición del crecimiento bacteriano.

- Mecanismo bacteriano: La naturaleza policatiónica del quitosán, interfiere con los residuos cargados negativamente de las macromoléculas en superficie celular de las bacterias. El quitosán y otras poliaminas interactúan con la membrana celular alterando la permeabilidad de la célula.
- Mecanismo antifúngico: Involucra la unión de quitosán con la molécula de ADN para inhibir síntesis de ARNm. Se ha propuesto que cuando el quitosán es liberado de la pared celular de los hongos patógenos por las enzimas hidrolíticas de planta hospedadora, el quitosán penetra el núcleo de los hongos e interfieren con la síntesis de ARNm y las proteínas (Rinaudo, 2006).

Los oligómeros de quitosán consistentes en siete unidades de azúcares se ha comprobado que han sido los que poseen mayor actividad antifúngica. La actividad antimicrobiana se mide *in vitro* para determinar su potencia y sensibilidad de microorganismos (Lárez, 2006).

## **1.1.11 Generalidades de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales son los aditivos naturales que más interés han generado en los últimos años en la industria de los alimentos ya que ofrecen una alternativa antimicrobiana y antioxidante que puede garantizar la seguridad e inocuidad de los alimentos en donde se adicionan sin riesgo de contaminar el entorno (Bosquez, et al., 2009).

Los aceites esenciales son una mezcla de componentes volátiles, producto del metabolismo secundario de las plantas. Las esencias son mezclas complejas en cuya composición se encuentran los hidrocarburos como terpenos, junto con otros compuestos casi siempre oxigenados (alcoholes, éteres, ésteres, aldehídos y compuestos fenólicos) y que son los responsables del aroma que caracteriza a los aceites esenciales (Templeton, 1969).

Los estudios *in vitro* e *in vivo* reportados en frutas, hortalizas, productos cárnicos y lácteos indican que se requieren muy bajas concentraciones de aceites esenciales para lograr un efecto bioconservador (Bosquez, et al., 2009).

Los aceites esenciales son mezclas de lípidos o grasas de bajo peso molecular muy hidrofóbicas, con excepción de los nitrogenados y/o azufrados; generalmente son menos densas que el agua, y confieren el sabor y aroma característico de la fuente vegetal o cultivo de donde provienen.

Normalmente se extraen de diversas partes de las plantas (flores, frutas, hojas, raíces, bulbos, semillas, cortezas, hierbas y madera). En condiciones ambientales, son líquidos menos densos que el agua, pero más viscosos que ella, no solidifican a -20°C (Günther, 1948).

### **1.1.11.1 Composición Química**

Los principales componentes de los aceites esenciales pueden constituir hasta el 85% del aceite y el resto de los compuestos se encuentra en pequeñas cantidades o trazas (Senatore, 2004). Existen evidencias de que los componentes menores desempeñan un papel relevante en la función antimicrobiana, probablemente generando un efecto sinérgico con los otros

constituyentes de las mezclas (Delaquis, et al., 2002). Es debido a su compleja composición química, que los aceites esenciales son diversos en sus efectos, y en ello se fundamenta su acción antimicrobiana pues esto contribuye a reducir o inhibir la resistencia de los microorganismos.

Los aceites esenciales ricos en terpenos y compuestos fenólicos poseen alta actividad antimicrobiana; algunas hierbas o especias con estas propiedades incluyen a la pimienta, la albahaca, el laurel, el clavo, la canela, la cúrcuma, el eucalipto, el extracto de semilla de toronja, el orégano, la paprika, el rábano, el romero, la salvia, el tomillo, la valeriana, el estragón, entre otras más (Draughon, 2004).

El tomillo y el orégano que se utilizan en la industria alimenticia como sazonadores y bioconservadores culinarios, contienen aceites esenciales que se consideran con una alta actividad inhibitoria. Los terpenos carvacrol,  $\rho$ - cimeno y timol son los principales componentes volátiles de estas especias, siendo el timol el que se encuentra en mayor proporción (en el orégano hasta en un 50% y en el tomillo hay 43% de timol y 36% de  $\rho$ -cimeno) (Conner, 1993). La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales y oleorresinas de tomillo y orégano es amplia contra bacterias, hongos y levaduras (Gvdbiotech, 2009).

### **1.1.11.2 Mecanismo de acción antioxidante**

No se tiene un mecanismo absoluto que explique la actividad antioxidante de los aceites esenciales, principalmente debido a que están conformados por una gran cantidad de compuestos de diferente naturaleza (Stachenko, 2005) establecen que si bien el mecanismo de la acción antioxidante de los aceites esenciales no se conoce con toda certeza, la composición química inherente de los mismos establecera las pautas para determinar los medios de la acción antioxidante o pro-antioxidante (Fotti, et. al., 2003) establecen la actividad antioxidante del  $\gamma$ -terpineno (un componente de algunos aceites esenciales) como resultado de la capacidad de sus radicales para reaccionar con los radicales libres de ácidos grasos insaturados, de lo cual se infiere que en mayor o menor grado los compuestos del tipo monoterpenoide y/o sesquiterpenoide tienen capacidad antioxidante mediante el atrapamiento de intermediarios de radicales y consecuente bloqueo de la reacción en cadena tpica de la oxidación lipídica. De igual modo, en otros estudios se ha mostrado una capacidad similar para atrapar radicales del tipo DPPH y ATBS por parte de aceites

esenciales y sus componentes, especialmente aquellos de tipo fenólico (Stachenko, 2005). Las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos, especialmente polifenoles, es conocida en el ámbito científico dada su capacidad para atrapar radicales libres y evitar su propagación en el medio. En efecto, la capacidad de un antioxidante para reducir un radical como el DPPH depende en gran parte en su habilidad para donar protones (H<sup>+</sup>) lo que a su vez está directamente relacionado con el número de grupos hidroxilo dentro del compuesto fenólico. Estudios sobre potenciales de oxidación y reacciones redox entre polifenoles e iones de metales de transición han mostrado que una estructura del tipo o-dihidroxil es crucial en la eficiencia del sistema (Li, et. al., 2009).

Sin embargo, el mecanismo no dependerá exclusivamente de la interacción entre los compuestos fenólicos del aceite esencial y los radicales libres producidos durante el proceso de oxidación lipídica; sino que en él también intervienen las relaciones sinérgicas internas entre los componentes del aceite esencial y los efectos de otros componentes como proteínas, minerales y vitaminas (Bouhdid, 2008).

### **1.1.11.3 Compuestos con actividad antimicrobiana**

Dentro de los productos naturales existe un gran interés en su uso como antimicrobianos y su posible substitución con los tradicionalmente utilizados (Nychas, 1995) ya que existen varios reportes en la bibliografía acerca de la actividad antimicrobiana de especies, hierbas y plantas o sus extractos (Hitokoto et al., 1980).

Si bien se ha estimado que las plantas sintetizan cientos de miles de diferentes compuestos de metabolitos secundarios y que todos los días son reportados otros nuevos, se los ha agrupado en cinco clases de acuerdo a la estructura química o según la forma en que la planta los produce.

En la Tabla 8 se pueden observar algunos ejemplos de compuestos con actividad antimicrobiana producidos por plantas y descritos por Duke (1985).

## Ingeniería en Alimentos

**Tabla 8.** Principales tipos de compuestos antimicrobianos provenientes de plantas.

Nombre vulgar	Nombre científico	Compuesto	Clase	Actividad microbiana	Toxicidad relativa *
Aceite de oliva	<i>Olea europea</i>	Hexanal	Aldehído	General	No se conoce
Ajo	<i>Allium sativum</i>	Allicina, ajoeno	Sulfóxido	General	No se conoce
Cebolla	<i>Allium cepa</i>	Allicina	Sulfóxido	Bacteria, Candida	No se conoce
Chamomilla	<i>Matricaria chamomilla</i>	Ácido antémico	Ácido fenólico	<i>S. aureus</i> Helmintos	2.3
Clavo	<i>Syzygium aromaticum</i>	Eugenol	Terpeno	General	1.7
Eucaliptus	<i>Eucalyptus globtilus</i>	Taninos	Polifenoles	Bacterias E. coli	1.5
Ginseng	<i>Panax nooginseng</i>		Saponinas	<i>Staphylococcus</i> , <i>Trichophyton</i>	2.7
Henna	<i>Lawsonia inermes</i>	Ácido gálico	Ácido fenólico	<i>S. aureus</i>	1.5
Quinina	<i>Cinchona sp.</i>	Quinina	Alkaloide	<i>Plasmodium</i> spp.	2.0
Té verde	<i>Camellia sinensis</i>	Catequinas	Flavonoides	General	2.0
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>	Timol, caninos	Terpenos, polifenoles	Bacterias, hongos	2.5
Valeriana	<i>Valeriana officinalis</i>	Aceite esencial	Terpenos	General	2.7
*0 altamente seguro, 3 altamente tóxico					

Fuente: Cowan, 1999.



## **1.1.11.4 Extracción de aceites esenciales**

Para obtener un aceite esencial de calidad hay que tomar en cuenta los diferentes factores que pueden alterar su composición. Son 5 los aspectos fundamentales que determinan la composición química de los aceites esenciales: 1. Variedad genética y el estado de desarrollo de la planta o de sus órganos, 2. Factores geográficos y ambientales como la temperatura, luminosidad, humedad relativa, composición del suelo, 3. Prácticas culturales 4. Cortes y operaciones postcosecha y 5. El método de extracción; este último, es el más importante de todos los puntos mencionados.

Los métodos usados para la extracción de las sustancias aromáticas contenidas en las “mezclas” de los aceites esenciales incluyen: 1. El enfleurage, 2. La compresión, 3. La extracción por solventes, 4. La extracción con fluidos supercríticos, 5. La extracción con etanol y 6. La destilación, que es el más usado de todos (Judd, et al.,2002).

## **1.1.11.5 Características del Tomillo (*Thymus vulgaris*)**

Es un pequeño arbusto (Figura 16) con un penetrante olor aromático, que alcanza los 40 cm de altura de aspecto grisáceo. Tiene los tallos erguidos, cuadrangulares, leñosos y muy ramificados. Las hojas son pequeñas de 3-8 mm, son lineares, oblongas, dentadas, opuestas, tomentosas, sin cilios, con el pecíolo o sus márgenes revueltos hacia abajo y blanquecinas por su envés.

Las flores son pequeñas de color rosa y están agrupadas en la extremidad de las ramas, formando una especie de capítulo terminal, a veces con inflorescencia interrumpida y producidas en corimbos. Las brácteas son verde-grisáceas, el cáliz, algo giboso, con pelos duros, con tres dientes en el labio superior, cortos, casi iguales y dos dientes en el labio inferior, muy agudos, más largos, con pelos en sus bordes y de color rojizo. La corola es un poco más larga que el cáliz, con el labio superior erguido y el inferior trilobulado y de color blanquecino o rosado. Los 4 estambres sobresalen de la corola y el fruto es lampiño, de color marrón. Florece en primavera a partir de marzo (López, 2006).

## 1.1.11.6 Clasificación Científica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: *Thymus*

Especie: *vulgaris*

Nombre científico: *Thymus vulgaris*



**Figura 16.** Tomillo (*T. vulgaris*)

## 1.1.11.7 Composición Química

La composición química de las ramas contiene flavonoides, derivados del apigenol y del luteolol; ácidos fenólicos, caféico, rosmarínico, clorogénico; ácidos triterpénicos, ursólico y oleanoico; saponinas y un principio amargo (serpilina) contiene también elementos minerales (Fonnegra, 2006).

El aceite esencial está constituido principalmente por fenoles monoterpénicos, como timol, carvacrol, *p*-cimeno, gammaterpineno, limoneno, borneol y linalol. No obstante, se ha de tener en cuenta que la composición del aceite esencial es variable según la época y lugar de la cosecha, además de la bien conocida existencia de diferentes quimiotipos, tanto de *T. vulgaris* como *T. zygis* (Carretero, 2000).

## 1.1.11.8 Mecanismo antioxidante

Para la variedad *Thymus vulgaris* (la más común) el timol es el componente principal (aproximadamente en un 40 – 50%), seguido por el carvacrol ( $\approx 5\%$ ), *p*-cimeno ( $\approx 30\%$ ) y  $\gamma$ -terpineno ( $\approx 2\%$ ) (Horváth, 2008). De hecho, el efecto antioxidante está determinado principalmente por los isómeros timol y carvacrol; especialmente el timol dada su mayor resistencia estérica en el grupo fenólico en comparación con el carvacrol lo que a su vez impide reacciones colaterales indeseables (los compuestos fenólicos tienen la capacidad de donar los átomos de hidrógeno del grupo funcional hidroxilo al reaccionar con radicales

peroxilo, lo cual produce radicales estables fenoxilo y por ende termina la reacción en cadena típica de los procesos de oxidación lipídica. Luego, entre menor sea la probabilidad de reacciones simultáneas para dicho grupo funcional mejor será su efecto como receptor de radicales libres). El efecto antioxidante de estos compuestos fenólicos (timol y carvacrol) es dependiente de la concentración de los mismos (Yanishlieva et al., 1999).

### **1.1.11.9 Potencial Antimicrobiano**

Dentro de los compuestos presentes en los extractos vegetales que poseen actividad antimicrobiana, se pueden mencionar el timol, el carvacrol o el eugenol; algunos autores como Conner en 1993, reportaron la alta actividad antimicrobiana de éstos compuestos en forma pura.

Con respecto al carvacrol, se ha demostrado que se encuentra presente en aceites esenciales de orégano (60% a 70% de carvacrol) y tomillo (45% de carvacrol). La inhibición del crecimiento de muchos patógenos por el carvacrol, ha sido reportado en varios artículos, sin embargo no se ha definido el mecanismo de acción de éste. Usando como organismo modelo a *Bacillus cereus*, que es un esporoformador patógeno en alimentos, se ha demostrado que la exposición de las células vegetativas a concentraciones de carvacrol mayores a 1ml, conduce a un incremento de la fase de latencia, una tasa baja de crecimiento y una densidad final de población baja. También se ha observado que a concentraciones por encima de 1ml, la viabilidad de *B. cereus* disminuye exponencialmente. Al mismo tiempo que hay un incremento en la permeabilidad de la membrana observándose la salida de protones e iones de potasio, conduciendo a disminución del gradiente de pH a través de la membrana citoplásmica, un colapso potencial de membrana e inhibición de la síntesis de ATP. Finalmente estos eventos, son seguidos por la muerte celular (Ultee, et. al., 2002).

Por otra parte, el timol es un isómero del carvacrol que se ha visto implicado en la desintegración de la membrana citoplasmática en células de *E. coli* y *Salmonella typhimurium*. El timol y el cimol (precursor biosintético del timol) son ejemplos de preservativos naturales que han sido reportados por tener efectos inhibitorios sobre bacterias y hongos (Delgado et. al., 2003).

## **CAPÍTULO II. Metodología**

### **2.1 Objetivo General**

Evaluar la actividad antifúngica de tres recubrimientos a base de a) quitosán, b) quitosán adicionado con aceite esencial de tomillo y c) aceite esencial de tomillo sobre la microbiota, germinación y vigor de maíz bajo condiciones de almacenamiento.

### **2.2 Objetivos Particulares**

#### **Objetivo particular 1**

Determinación de la calidad biológica y sanitaria inicial que se presenta en los granos de maíz.

#### **Objetivo particular 2**

Evaluar la actividad antifúngica de un recubrimiento a base de a) quitosán, b) quitosán adicionado con aceite esencial de tomillo a dos diferentes concentraciones y c) aceite esencial de tomillo utilizando dos diferentes concentraciones en granos de maíz, bajo condiciones de 85% de humedad relativa a 25°C.

#### **Objetivo particular 3**

Evaluar el efecto de los tratamientos de a) quitosán, b) quitosán adicionado con aceite esencial de tomillo a dos diferentes concentraciones y c) aceite esencial de tomillo a dos diferentes concentraciones como recubrimiento en granos de maíz sobre la germinación y vigor.

## 2.3 Cuadro Metodológico

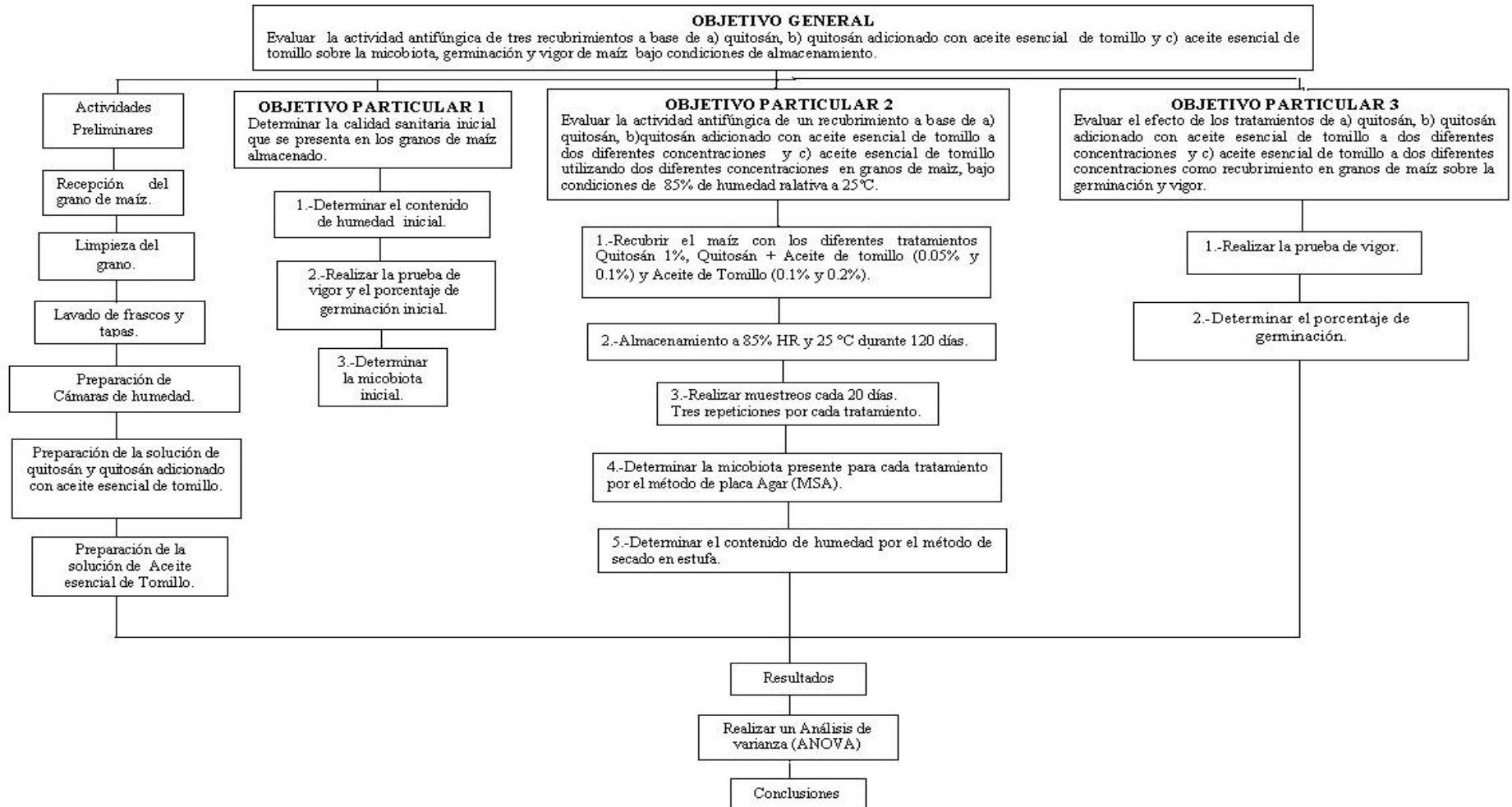


Figura 17. Cuadro Metodológico.

## 2.3.1 Descripción de actividades

### ACTIVIDADES PRELIMINARES

#### 1. Recepción del grano de maíz.

El grano de maíz utilizado para este proyecto fue adquirido de San Pablo de las Tunas, Acatzingo Puebla de los Angeles, México. Variedad H-48. Las características iniciales del maíz se presentan en el Tabla 9.

**Tabla 9.** Características del grano de maíz utilizado para la experimentación.

Producto	Maíz blanco plano
Procedencia	Puebla, México
Humedad	10.82 %

#### 2. Limpieza del grano.

Se realizó la limpieza del grano para quitar basura y materia extraña, granos quebrados o que presentaran algún defecto que pudiera interferir con los resultados, así como granos diferentes al que nos interesa.

Se utilizaron 3 tamices para la limpieza. Se encontraron 0.78% de semillas amarillas y 1.15% de basura.

#### 3. Lavado de frascos y tapas.

Se lavaron y secaron los frascos y tapas necesarios para la experimentación.

#### 4. Preparación de cámaras de humedad.

Para la preparación de las cámaras de humedad se utilizó una solución saturada de Cloruro de Potasio para obtener una humedad de 85 %.

Se pesaron 500 g de Cloruro de Potasio en una balanza granataria y se disolvieron en 1000 ml de agua destilada a 60 °C.

## 5. Preparación de la solución de quitosán y quitosán con aceite esencial de tomillo.

El origen del quitosán proviene de cáscaras de camarón obtenidas según la patente Mexicana No. 293022 con el nombre Proceso para la extracción de Quitina a partir de exosqueletos de crustáceos y su conversión a Quitosán por Susana Patricia Miranda Castro y Alma Virginia Lara Sagahon.

Se preparó una solución de quitosán de 1.5 L a una concentración del 1 %. La solución se preparó disolviendo 15 gramos de quitosán en una solución acuosa de ácido Acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) al 1%, se colocó en una parrilla de agitación hasta obtener una solución homogénea.



**Figura 18.** Quitosán y solución de quitosán.

Una vez disuelto el quitosán se dividió en tres partes iguales de 500 ml cada una, de las cuales a dos de ellas se les agregó 0.227 ml y 0.455 ml de aceite esencial de tomillo para llegar a las concentraciones de 0.05 y 0.1 % respectivamente de quitosán adicionado con aceite de tomillo. Se le midió el pH a la solución de quitosán con tiras reactivas dando un pH de 5. El Quitosán es de alto peso molecular.

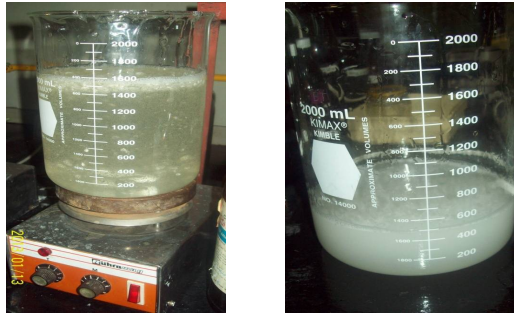


Figura 19. Preparación de la solución de quitosán con aceite de tomillo.

## 6. Preparación de solución de aceite de tomillo.

Se prepararon dos soluciones de tween 80 al 0.005%, se les adicionó 65 y 130  $\mu\text{L}$  de aceite esencial de tomillo y 10 ml de agua destilada hasta obtener una concentración de 0.1%, 0.2% respectivamente, se agitó durante 5 minutos hasta obtener una mezcla homogénea.



Figura 20. Preparación de la solución de aceite de tomillo.

## OBJETIVO PARTICULAR 1

Para determinar la calidad sanitaria del maíz se realizaron las siguientes pruebas:

### Determinación del contenido de humedad inicial

Se determinó el contenido de humedad inicial a 5 semillas por cuadruplicado sin tratamiento por el método de secado en estufa, se registró el número de cada caja, se pesaron las cajas vacías y después se pesó con muestra de maíz. Las muestras se colocaron en una charola y se metieron en la estufa de aire forzado Marca Blue M, a una temperatura de 103 °C durante 72 horas (ISTA, 2010).



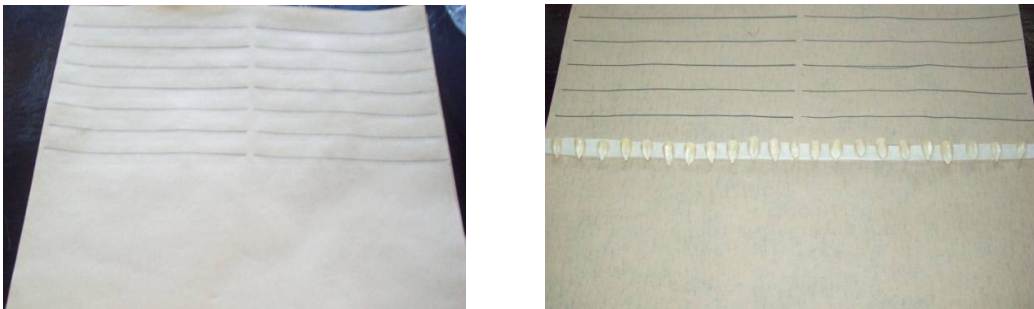


**Figura 21.** Determinación del contenido de humedad.

## **Prueba de vigor y porcentaje de germinación inicial.**

Se realizó la prueba de germinación y vigor para determinar las condiciones iniciales de la semilla.

Se tomó una muestra aleatoria de 100 granos con 4 repeticiones, sobre una hoja previamente rayada (para determinar el crecimiento de la plúmula), se colocó una tira de masking tape con el pegamento hacia arriba sobre la cual se pegaron 25 granos hacia arriba por hoja.



**Figura 22.** Prueba de germinación y vigor.

Una vez que se terminó de pegar el maíz, se le colocaron dos hojas de papel secante, se envolvieron en forma de taco y se humedecieron por completo, los tacos de germinación y vigor se colocaron ya húmedos en una bolsa de plástico a las cuales se les cortaron las esquinas para evitar demasiada humedad.

Posteriormente se incubaron en una incubadora marca Precisión Scientific modelo Low a 25 °C por 7 días.



**Figura 23.** Prueba de germinación y vigor.

## **Micobiota inicial del maíz.**

Para la determinar de la micobiota inicial del maíz, se tomaron 360 granos los cuales fueron desinfectados superficialmente con una solución de hipoclorito al 3 % por dos minutos. De estos 360 granos, 180 granos fueron colocados en medio de cultivo de malta sal agar (MSA) y los otros 180 en agar de papa dextrosa (PDA).

Fueron sembrados bajo condiciones de asepsia en una campana de flujo laminar marca YECO (Figura 25), 15 granos en cada caja de Petri con los medios de cultivo de manera ordenado y dejando espacio suficiente entre cada uno (Figura 24) con el embrión hacia arriba.



**Figura 24.** Determinación de la micobiota de granos de maíz en MSA y PDA



**Figura 25.** Campana de Flujo Laminar marca YECO.

Posteriormente las placas de agar con los granos de maíz sembrados con los diferentes tratamientos, fueron incubados por 7 días a una temperatura de 25°C, en una incubadora Marca Precisión Scientific modelo Low.

Después de los 7 días de incubación se marcaron e identificaron las colonias de hongos que se desarrollaron en los granos de maíz. Las colonias fueron aisladas tomando una pequeña porción con una aguja de disección previamente estéril y se sembraron en placas de papa dextrosa agar, posteriormente se incubaron por 7 días a 25°C.



**Figura 26.** Aislamiento de los hongos.

Después de tener aisladas las colonias de los hongos se identificaron a nivel de género y/ o especie utilizando claves especializadas para género. Para las especies de *Penicillium* la clave utilizada fue la de Pitt 1979, para *Aspergillus* Maren A. Klich 2002, para el género

# Ingeniería en Alimentos

*Fusarium* Leslie and Summerell 2006 y para las otras especies de hongos las claves Watanabe 2010, Sutton 1980 y Barnett and Barry. Para identificar a nivel de especie los aislados, se preparó una suspensión de esporas en una solución de agua agar al 0.2% con 0.05 de tween 80% (Figura 27), se homogenizo en un vortex marca Genie 2 (Figura 28) para después utilizando una pipeta Science Marca MED (Figura 29).



**Figura 27.** Hongos purificados.



**Figura 28.** Homogeneizador Vortex.



**Figura 29.** Pipeta Science.

Después de tener aisladas las colonias se sembraron en tres puntos equidistantes, en medios de cultivo selectivos <sup>1</sup> para su identificación (Fig. 30).

<sup>1</sup>Ver en los anexos como preparar los medios de cultivo.

Para las especies del género *Penicillium* se utilizaron los medios de cultivo agar Czapek levadura (CYA), agar extracto de levadura malta (EMA) y agar extracto de glicerol al 25% (G25n), incubándose a 5, 25 y 37 °C por 7días.

Para *Aspergillus* se utilizan los medios de cultivo agar Czapek levadura (CYA), agar extracto de levadura malta (EMA), agar Czapek (CZ) y agar Czapek levadura con 20% de sucrosa (CY20s), incubándose a 5, 25 y 37 °C por 7 días.

Y para *Fusarium* los medios de cultivo Infusión de agar papa dextrosa (PDA) y el medio de agar clavel (CLA), incubándose a 25 °C por 7 días en fotoperiodo de luz UV negra y blanca por 12 horas de luz por 12 horas de oscuridad.



**Figura 30.** Sembrado de los hongos.

## **OBJETIVO PARTICULAR 2**

### **Aplicación de los diferentes tratamientos al grano de maíz.**

Para llevar a cabo la experimentación se utilizó maíz blanco nacional. Los granos de maíz fueron recubiertos con los diferentes tratamientos, quitosán al 1%, quitosán adicionado con aceite esencial de tomillo a dos diferentes concentraciones (0.05%, 0.1%) y diferentes soluciones de aceite de tomillo a dos concentraciones (0.1% y 0.2%).

Se pesaron 650g de maíz y se recubrieron con cada uno de los tratamientos. Después de aplicar y homogenizar el maíz con las soluciones de los tratamientos se pusieron a escurrir por 10 minutos.





**Figura 31.** Granos recubiertos con uno de los tratamientos.

Posteriormente se colocaron en unas charolas y se dejaron secar a temperatura ambiente por 2 horas aproximadamente.



**Figura 32.** Granos tratados.

## **Almacenamiento.**

Una vez que la muestra se observó seca se pesaron 36 g para cada tratamiento y el testigo y se colocaron en 18 frascos de vidrio previamente rotulados.



**Figura 33.** Pesado de los granos tratados.

Ya estando los granos de maíz en los frascos se cubrieron las bocas de éstos con plástico y se perforaron con agujas estériles.



**Figura 34.** Frascos con los granos tratados y recubiertos.

Posteriormente se colocaron dentro de una cámara húmeda previamente preparada con una solución sobresaturada de KCl para obtener una humedad relativa de 85%. Se almacenaron en una incubadora Marca Precisión Scientific modelo Low a una temperatura de 25 °C.

## Muestreos.

Se realizaron 6 muestreos cada 20 días hasta completar los 120 de almacenamiento, los tratamientos fueron analizados por triplicado de manera aleatoria incluyendo el testigo para realizar las pruebas de calidad sanitaria y biológica.

## **Prueba de la microbiota para cada tratamiento.**

Se hizo una prueba de microbiota a 45 semillas con tres repeticiones de cada tratamiento y del testigo. Fueron desinfectados superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio al 3 % por dos minutos, y se colocaron 15 granos por cada caja petri con medio de cultivo de malta sal agar (MSA), dejando espacio entre ellos y con el embrión hacia arriba.



**Figura 35.** Granos desinfectados superficialmente con hipoclorito de sodio.

Posteriormente fueron incubadas por 7 días a una temperatura de 25 °C en una incubadora marca Precisión Scientific modelo Low.

Pasando los 7 días se realizó el mismo procedimiento que en el objetivo 1 para identificar los hongos que se desarrollaron en cada uno de los muestreos. Así mismo, se llevaron a cabo las mismas metodologías para identificar los hongos hasta nivel de especie.

## **Prueba de Contenido de humedad para cada tratamiento.**

Se realizó la prueba de contenido de humedad por el método de secado en estufa. Para cada tratamiento y testigo se pesaron por duplicado cajas de aluminio de 5 cm de diámetro y de 3 cm de altura a las cuales se les agregaron de 4 a 10 g de la muestra del grano y se metieron a una estufa de aire forzado Modelo Blue M, a una temperatura de 103 °C durante 72 horas (ISTA, 2010).



Después de sacarlas de la estufa se colocaron en un desecador para posteriormente una vez frías se pesaron y se realizó el cálculo del porcentaje del contenido de humedad de cada tratamiento de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ CH} = A/B \times 100$$

En donde:

% CH = Porcentaje del contenido de humedad

A = Pérdida de peso en gramos

B = Peso original de la muestra



**Figura 36.** Determinación del contenido de humedad.

## OBJETIVO PARTICULAR 3

### **Prueba de vigor y porcentaje de germinación para cada tratamiento.**

Se realizó la prueba de germinación y vigor a 50 semillas con tres repeticiones por tratamiento, dando como resultado 900 semillas.

Sobre una hoja de papel tipo anchor previamente rayada, se colocó una tira de masking tape con el pegamento hacia arriba sobre la cual se pegaron 25 granos por hoja con el embrión hacia arriba.

Una vez que se terminó de pegar el maíz, se le colocaron dos hojas de papel secante encima para cubrir las, se envolvieron en forma de taco y se humedecieron por completo, los tacos de germinación y vigor se metieron húmedos en una bolsa de plástico a las cuales se les cortaron las esquinas para evitar demasiada humedad.

Posteriormente los tacos de germinación se incubaron a 25°C por 7 días en una incubadora marca Precisión Scientific modelo Low. Pasando los 7 días se efectuó el conteo de germinación considerando los granos germinados, duros y muertos. El resultado se expresó en porcentaje y la longitud media de plúmula para cada uno de los tratamientos se evaluó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$L = \frac{(nx_1 + nx_2 + \dots + nx_n)}{n}$$

25

En donde:

L = longitud media de la plúmula

n = número de plúmulas entre cada par de paralelas

x = la distancia media desde la línea central

## **Diseño Experimental**

### **Análisis de Varianza (ANOVA)**

Para los resultados obtenidos durante los 120 días de almacenamiento de las pruebas de contenido de humedad, microbiota presente en el grano y el porcentaje de germinación y vigor se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una comparación de medias por el método de Tukey con una  $p < 0.05$ , utilizando el paquete estadístico MINITAB versión 16.

Las variables que se tomaron en cuenta para realizar el análisis de varianza fueron el tiempo en días (20,40,60,80,100 y 120) y los tratamientos aplicados, quitosán al 1%, quitosán más aceite de tomillo al 0.05 y 0.1% y aceite esencial de tomillo al 0.1 y 0.2%

como variable independiente, como variable dependiente el porcentaje de humedad, microbiota presente, germinación y vigor.

## CAPÍTULO III. Resultados y Discusión.

### 3.1 Determinación de la calidad biológica y sanitaria inicial que se presenta en los granos de maíz.

#### Calidad Biológica

En la Tabla 10 se observa que la semilla sin tratamiento comenzó con una humedad de 10.82 %, de acuerdo con la norma (NMX-FF-034/1-SCFI-2002) la cual menciona que contenidos de humedades menores al 14 % permiten una mejor conservación y un mejor almacenamiento de la semilla. La germinación comenzó con un valor muy alto de 97.75 % y para el caso del vigor con un valor moderadamente alto de 10.24.

**Tabla 10.** Calidad biológica del maíz sin tratamiento.

	<b>Humedad</b>	<b>Germinación</b>	<b>Vigor</b>
<b>MEDIA (%)</b>	10.82	97.75	10.24

Los resultados nos indican que el maíz H-48 sin tratamiento es una semilla con alta calidad fisiológica ya que que la germinación y el vigor son variables importantes que definen a esta (AOSA, 1992), también indica que la semilla está en buenas condiciones y por consiguiente es de recién cosecha.



**Figura 37.** Prueba de germinación y vigor inicial.

## Calidad Sanitaria

Se analizó la micobiota presente del maíz H-48 sin tratamiento en dos medios de cultivo agar papa dextrosa (PDA) y agar malta sal (MSA), siendo el PDA el que presentó una mayor incidencia de hongos con un 23.88 % y con un 11.66 % en MSA. Los hongos identificados a nivel género y/o especie fueron: *Fusarium dimerum*, *Fusarium oxysporium*, *Fusarium sambucinum*, *Fusarium subglutinans*, *Colletotrichum graminícola*, *Paecilomyces sp.*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium comune*.<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Revisar en los anexos las características morfológicas.

**3.2 Evaluar la actividad antifúngica de un recubrimiento a base de a) quitosán, b) quitosán adicionado con aceite esencial de tomillo a dos diferentes concentraciones y c) aceite esencial de tomillo utilizando dos diferentes concentraciones en granos de maíz, bajo condiciones de 85% de humedad relativa a 25°C.**

## Contenido de Humedad

**Tabla 11.** Determinación del contenido de humedad (porcentaje) del maíz almacenado durante 120 días con los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Tiempo (días)					
	20	40	60	80	100	120
Testigo	14.1 b	15.2 a	15.8 ab	15.6 a	16.4 a	16.4 a
Quitosán 1%	14.8 a	15.3 a	16.3 a	17.0 a	16.6 a	16.7 a
Quitosán + Aceite 0.05%	14.4 ab	15.4 a	15.7 b	15.8 a	16.7 a	16.3 a
Quitosán + Aceite 0.1%	14.8 a	15.4 a	16.3 a	16.5 a	16.7 a	16.6 a
Aceite de Tomillo 0.1%	14.3 ab	15.3 a	15.8 ab	16.4 a	17.2 a	16.0 a
Aceite de Tomillo 0.2%	14.5 a	15.5 a	16.1 ab	16.3 a	16.4 a	16.5 a

Valores seguidos de la misma letra, no difieren estadísticamente (Tukey,  $p < 0.05$ ).

En la Tabla 11 se muestran los resultados obtenidos de la humedad del maíz durante el período de almacenamiento a 85% de humedad relativa y a 25° C, se puede observar que el

contenido de humedad del maíz en todos los tratamientos fue aumentando conforme el tiempo de almacenamiento transcurrió; en los periodos de 20 y 60 días aunque no existe una diferencia numérica entre los tratamientos si existe una diferencia significativa. En el caso de los 20 días las mayores humedades las presentaron los tratamientos de Quitosán al (1% ) y el Quitosán adicionado con Aceite de Tomillo (0.1%), la menor humedad la presento el Testigo y los demás tratamientos no tuvieron diferencia significativa y para los 60 días el Quitosán adicionado con Aceite de Tomillo (0.1%) fue el tratamiento con mayor humedad teniendo 16.3 % y el más bajo tratamiento fue Quitosán adicionado con Aceite de Tomillo (0.05 %) con 15.7 % de humedad.

En los demás períodos de tiempo no existió diferencia significativa en ninguno de los tratamientos, pero se puede observar que para el caso de los 80 días el tratamiento con mayor contenido de humedad se presentó en el Quitosán (1%) con un 17.0% siendo de los valores más altos de humedad durante todo el período de almacenamiento.

En las dos concentraciones de Quitosán adicionado con Aceite de Tomillo (0.05 y 0.1%) y en el tratamiento de Aceite de Tomillo (0.1%) a los 100 días alcanzaron su maxima humedad llegando a 16.7, 16.7 y 17.2 % respectivamente.

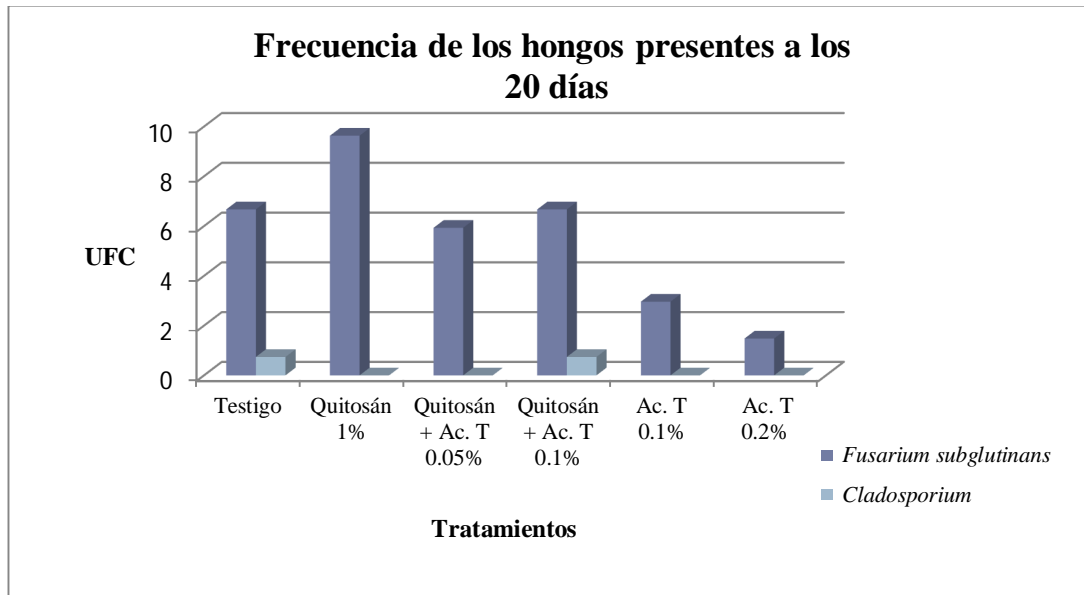
Las humedades presentadas para el final del período de almacenamiento no tuvieron diferencia significativa siendo el tratamiento con mayor humedad el Quitosán al (1%) ,pero los dos tratamientos con menores porcentajes de humedad fueron el Quitosán adicionado con Aceite de Tomillo (0.05%) y el Aceite de Tomillo al (0.1%); siendo estos los mejores tratamientos ya que se considera que el contenido de humedad que permite el manejo, conservación y almacenaminto del maíz, es del 14% (NMX-FF-034/1-SCFI-2002).

Las bajas humedades se atribuyen a que al incorporar el aceite esencial de tomillo o la mezcla de quitosán con el aceite esencial causa la formación de enlaces covalentes entre los grupos funcionales de las cadenas de quitosán, dando lugar a una disminución en la disponibilidad de los grupos hidroxilo y amino y limitando las interacciones del agua por enlaces de hidrógeno, lo cual resulta en una disminución del valor del contenido de humedad de las películas comestibles (Ojagh et al, 2010).

## Micobiota

Los siguientes gráficos muestran la frecuencia de los hongos que aparecen en el maíz almacenado bajo condiciones de 85% de humedad relativa y 25 °C durante un período de 120 días.

**Figura 38.** Frecuencia de hongos presentes en el grano de maíz almacenado durante 20 días con diferentes tratamientos.

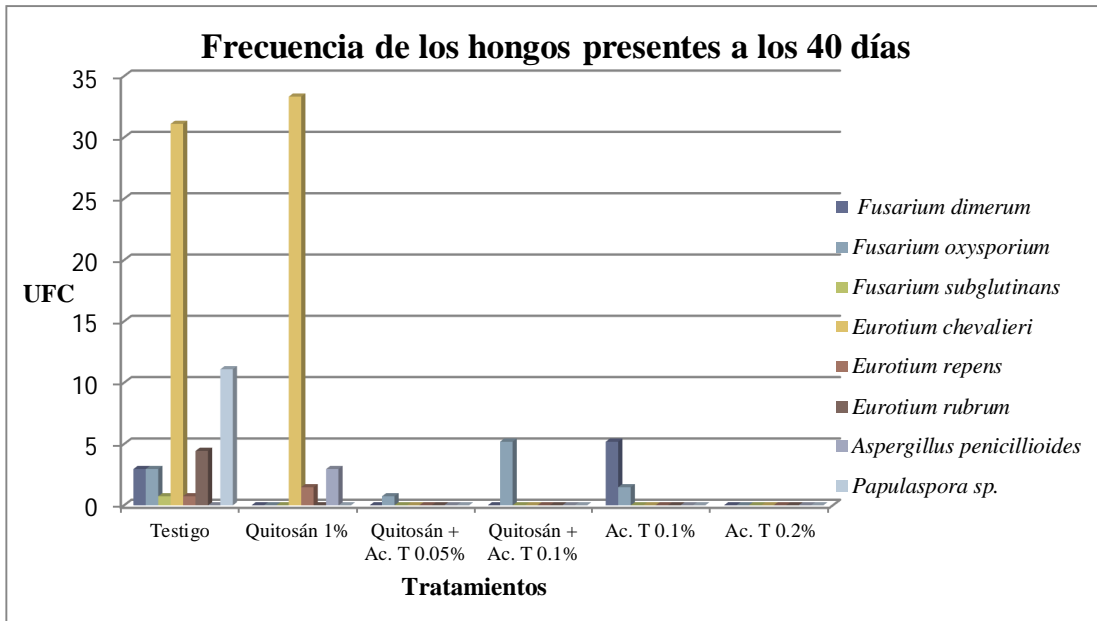


En la Figura 38 se presenta el resultado de la micobiota presente durante 20 días de almacenamiento encontrando el desarrollo de *Fusarium subglutinans* y *Cladosporium*, ambos hongos de campo. Para el caso del *Fusarium subglutinans* la mayor incidencia se presentó en el Qitosán (1%) con un porcentaje de 9.63 seguido del Testigo y del Qitosán más Aceite de Tomillo al (0.1%) con una frecuencia de 6.67%.

En cambio la presencia de *Cladosporium* solo se presentó en el Testigo y en el Qitosán adicionado con Aceite de Tomillo al (0.1%) con una frecuencia de 0.74%.

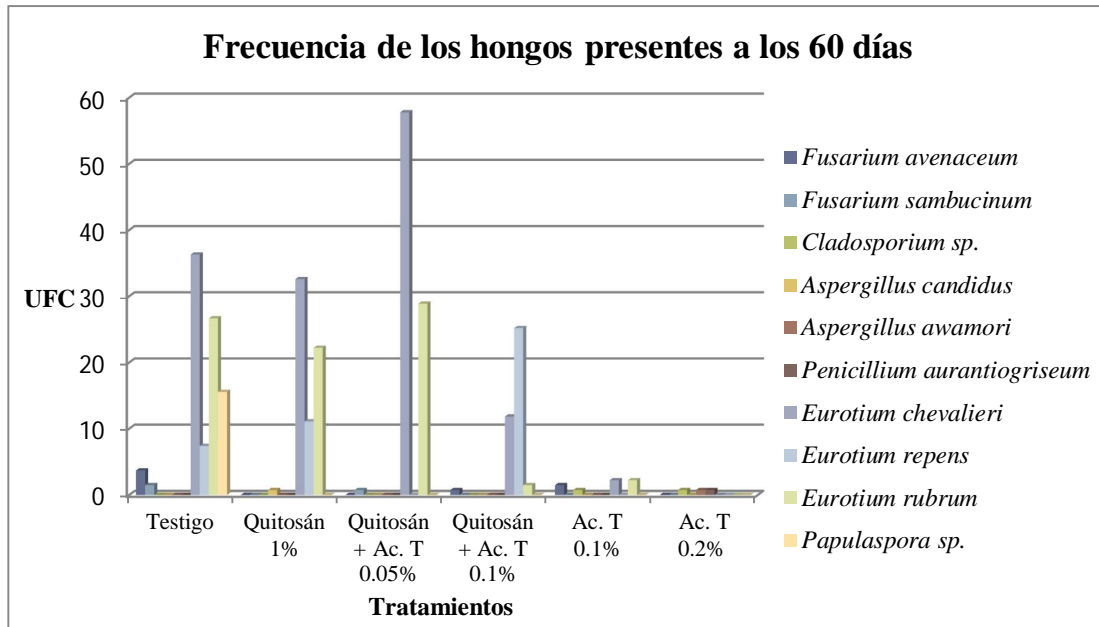
Hernández-Lauzardo, et. al, (2006) han reportado que el quitosán de bajo peso molecular es más efectivo para inhibir el crecimiento micelial de algunos hongos, por lo que se considera que esto pudo afectar la actividad antifúngica del quitosán ya que en este trabajo se utilizó un quitosán con alto peso molecular.

**Figura 39.** Frecuencia de hongos presentes en el grano de maíz almacenado durante 40 días con diferentes tratamientos.



Para el período de los 40 días de almacenamiento las especies de hongos de campo que se presentaron fueron: *Fusarium dimerum*, *oxysporum*, *subglutinans* y *Papulaspora sp.* Además de los hongos de almacén: *Eurotium chevalieri*, *repens* y *rubru*. Por lo que se puede observar en la figura 39 la especie que se presentó con mayor frecuencia fue el *Eurotium chevalieri* en los tratamientos del Quitosán al (1%) con una frecuencia del 33.33% así mismo en el Testigo se observó *Papulaspora sp.* con una frecuencia del 11.11%.

**Figura 40.** Frecuencia de hongos presentes en el grano de maíz almacenado durante 60 días con diferentes tratamientos.



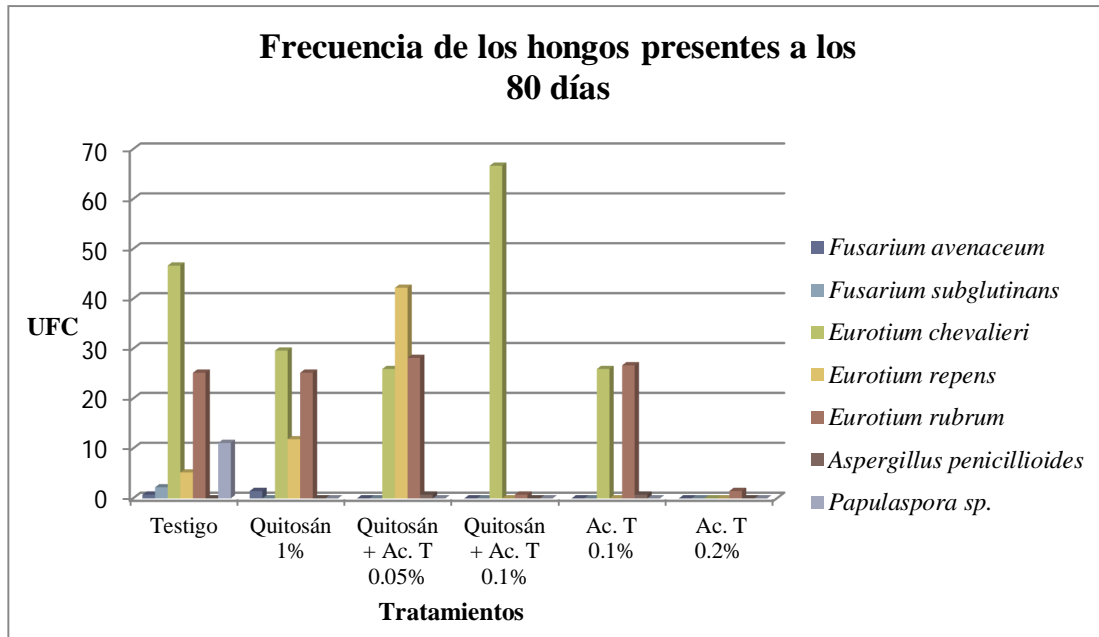
A los 60 días de almacenamiento los hongos que siguieron prevaleciendo con mayor frecuencia fueron el género de los *Eurotium* y *Papulaspora sp.* *Eurotium chevalieri* se presentó en los tratamientos QAT 0.05 (57.78 %), T (36.30%), Q (32.59%) y en los demás tratamientos se observó una menor frecuencia.

La especie *Eurotium rubrum* se desarrolló con mayor frecuencia en los tratamientos QAT 0.05 (28.89 %), T (26.67%), Q (22.22%), los demás tratamientos tuvieron una frecuencia muy baja. La especie *Eurotium repens* se presentó en los tratamientos con mayor frecuencia en QAT 0.1 (25.19 %), Q (11.11%) y T (7.40%), en los demás tratamientos no se observó; y para el caso de *Papulaspora sp.* se presentó en el testigo con 15.56%.

Para el tratamiento en Aceite de Tomillo al 0.2% los hongos que se presentaron fueron *Aspergillus awamori*, *Penicillium aurantiogriseum* y *Cladosporium sp.* Otros hongos que se desarrollaron durante este muestreo fueron *Fusarium avenaceum*, *Fusarium sambucinum* y *Aspergillus candidus*.

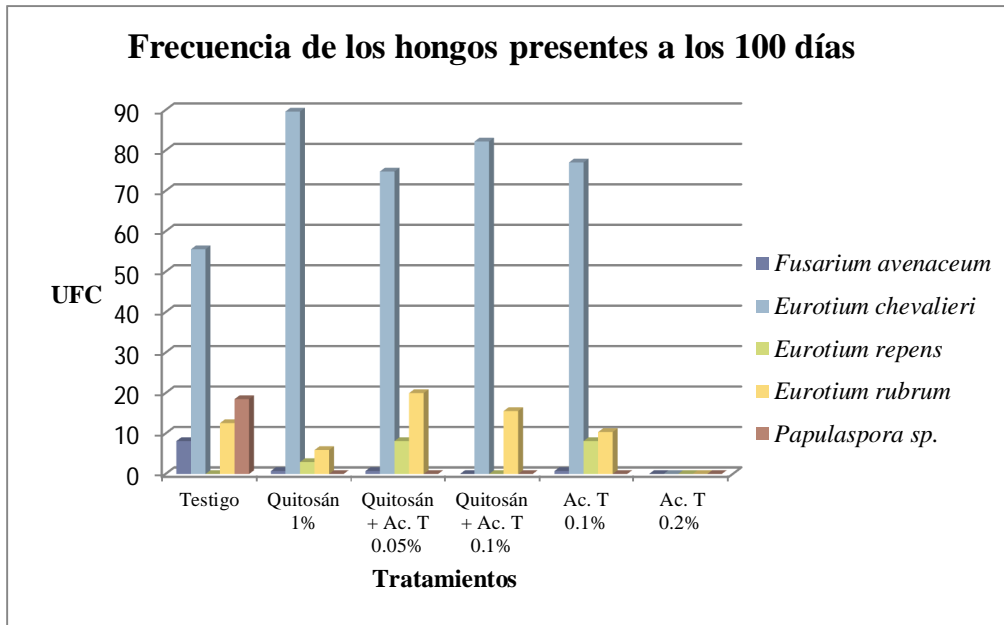


**Figura 41.** Frecuencia de hongos presentes en el grano de maíz almacenado durante 80 días con diferentes tratamientos.



Para el cuarto muestreo a los 80 días de almacenamiento siguieron desarrollándose con mayor frecuencia las especies *Eurotium* y el género *Papulaspora sp.* En el Testigo, *Fusarium avenaceum* y *Fusarium subglutinans* con una frecuencia de 2.22% esto para ambas especies, ambos aparecieron en el Testigo y solo *F. avenaceum* en el Quitosán 1% y se presentó una nueva especie *Aspergillus penicillioides* con 0.74% en el QAT al 0.05 y 0.1% en el tratamiento de AT.

**Figura 42.** Frecuencia de hongos presentes en el grano de maíz almacenado durante 100 días con diferentes tratamientos.

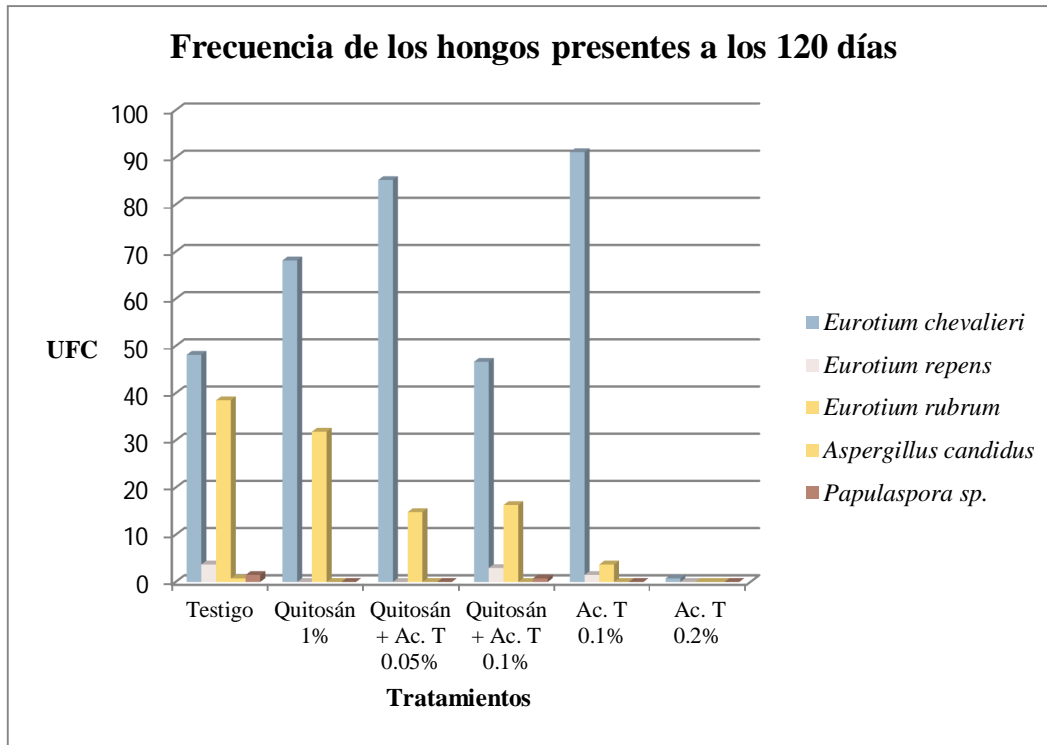


En el quinto muestreo a los 100 días de almacenamiento *Eurotium chevalieri* fue el hongo que se presentó con mayor frecuencia, seguido *Eurotium rubrum*, *Eurotium repens*, *Papulaspora sp.* y de *Fusarium avenaceum*.

A los 100 días de almacenamiento el tratamiento de aceite de tomillo al 0.2% fue el que permitió mayor actividad antifúngica no observándose el desarrollo de ningún hongo.

A los 100 días de almacenamiento el tratamiento de aceite de tomillo al 0.2% fue el que permitió mayor actividad antifúngica no observándose el desarrollo de ningún hongo mientras que los demás tratamientos presentaron frecuencias muy similares.

**Figura 43.** Frecuencia de hongos presentes en el grano de maíz almacenado durante 120 días con diferentes tratamientos.



En el último muestreo a los 120 días las especies que se observaron con mayor frecuencia fueron

En el último muestreo a los 120 días las especies que se observaron con mayor frecuencia fueron *Eurotium chevalieri* y *Eurotium rubrum* y con menor frecuencia *Eurotium repens*, *Papulaspora sp.*, *Aspergillus candidus* y *Aspergillus penicillioides*.

Durante todo el período de almacenamiento el mejor tratamiento para inhibir el crecimiento de hongos de campo y de almacén fue el aceite de tomillo en sus dos concentraciones (0.2 y 0.1%) y el de quitosán adicionado con aceite esencial de Tomillo 0.1% respectivamente. La mayor incidencia de hongos la presentó el testigo.

Los tratamiento con aceite esencial de tomillo al 0.2 y 0.1% tuvieron resultados favorables contra la inhibición de hongos coincidiendo con la información de Gvdbiotech (2009) el cual menciona que los aceites esenciales y oleorresinas de tomillo y orégano presenta una amplia actividad microbiana contra bacterias, hongos y levaduras, esto resulta de los compuestos de los aceites esenciales, en el caso del aceite esencial de tomillo sus principales constituyentes son el timol (aproximadamente en un 40 – 50%), seguido por el

carvacrol (45%), p-cimeno ( $\approx 30\%$ ) y  $\gamma$ -terpineno ( $\approx 2\%$ ) (Horváth, 2008). Algunos autores como Conner en 1993, reportaron la alta actividad antimicrobiana de éstos compuestos en forma pura. Con respecto al carvacrol, se ha reportado en varios artículos la inhibición del crecimiento de muchos patógenos, sin embargo no se ha definido el mecanismo de acción de éste.

Sin embargo, otros autores creen que el timol y carvacrol juegan un papel importante en los mecanismos de defensa de la planta en contra de microorganismos fitopatógenos, algunos tienen efecto antifúngico; reducen el crecimiento de las hifas, inducen la lisis provocando la evacuación citoplásmica del hongo e involucra cambios en la composición de la célula, ruptura de la membrana plasmática, desorganización estructural de la mitocondria e interferencia de las reacciones enzimáticas de la membrana mitocondrial (Kishore and Pande, 2007).

También el quitosán adicionado con aceite esencial de tomillo al 0.1% presentó buenos resultados contra el crecimiento de hongos, por sí solo el quitosán posee propiedades antifúngicas de acuerdo a Goy, Britto, & Assis, (2009) quienes en sus investigaciones encontraron la actividad antimicrobiana del quitosán contra bacterias y hongos. En otro estudio realizado por Georgantelis et al, (2007) mencionan que el quitosán presenta un efecto antioxidante y antimicrobiano y que éste puede incrementarse por la adición de aceites esenciales, lo cual puede observarse en los resultados obtenidos en este estudio, de acuerdo con los estudios de Dimitra Daferera et al. (2003) en donde observaron que el aceite esencial de tomillo presentó uno de los mejores efectos inhibitorios sobre *Fusarium spp.* y *Botrytis cinerea*.

El quitosán inhibe multitud de especies de hongos, exceptuando, o siendo menos efectivo con aquellas que lo poseen en sus paredes celulares como *Mucor sp.*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus orizae*, *Penicillium sp.*, etc., además de que existe una alta correlación entre la concentración de quitosán aplicado y la inhibición fúngica (Roller y Covill, 1999; Allan y Hardwiger, 1979); por lo que para una buena efectividad se debe encontrar la dosis adecuada.

Existen evidencias de que la sensibilidad de los hongos patógenos hacia el quitosán puede cambiar en los diferentes estadios de su desarrollo. Por ejemplo, en el trabajo de Liu et. al

(2007), se reportaron que el quitosán es mejor inhibidor de la germinación de *Penicillium expansum* que la de *B. cinerea*, contrariamente a lo que se observó en el crecimiento micelial de estas especies. De manera similar, un estudio reciente ha mostrado que el quitosán es más efectivo sobre los conidios que sobre las hifas de algunos hongos fitopatógenos (Palma, et. al, 2008). También se ha encontrado una relación directa entre la actividad fungicida y el peso molecular del quitosán (Hirano y Nagano, 1989; Bautista, et. al, 2005).

En la tabla 12 se presentan los hongos totales de géneros y/o especies aisladas e identificadas que se desarrollaron a lo largo del período de almacenamiento durante 120 días observando que la humedad relativa de 85% y temperatura de 25°C, favoreció a partir de los 40 días de almacenamiento especialmente en los tratamientos sin aceite esencial de tomillo el crecimiento de especies de hongos de almacén principalmente de los géneros *Eurotium* y *Aspergillus*, estos hongos son agentes causales de diversos daños en el grano de maíz como pérdida de germinación, manchado del grano, reducción de peso, cambios organolépticos, algunas especies como *A. candidus* calentamiento, encontrando que el tratamiento de aceite de tomillo al 2.0% fue el que presentó menor número de especies de hongos durante todo el período de almacenamiento. Así mismo, es importante señalar que la presencia del género *Fusarium* fue disminuyendo cuantitativamente a lo largo del período de almacenamiento, debido a que este hongo es considerado de campo el cual requiere para su óptimo desarrollo humedades relativas superiores al 90%.

**Tabla 12.** Hongos totales presentes en el grano de maíz almacenado por 120 días a 85% de HR y 25°C con los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Tiempo (días)					
	20	40	60	80	100	120
<b>Testigo</b>	<i>F. subglutinans</i> <i>Cladosporium</i> <i>sp.</i>	<i>F. dimerum</i> <i>F. oxysporum</i> <i>F. subglutinans</i> <i>E. chevalieri</i> <i>E. repens</i> <i>E. rubrum</i>	<i>F. avenaceum</i> <i>F. sambucinum</i> <i>E. chevalieri</i> <i>E. repens</i> <i>E. rubrum</i> <i>Papulaspora sp.</i>	<i>F. avenaceum</i> <i>F. subglutinans</i> <i>E. chevalieri</i> <i>E. repens</i> <i>E. rubrum</i> <i>Papulaspora sp.</i>	<i>F. avenaceum</i> <i>E. chevalieri</i> <i>E. rubrum</i> <i>Papulaspora sp.</i>	<i>E. chevalieri</i> <i>E. repens</i> <i>E. rubrum</i> <i>A. candidus</i> <i>Papulaspora sp.</i>
<b>Quitosán 1%</b>	<i>F. subglutinans</i>	<i>E. chevalieri</i> <i>E. repens</i> <i>A. penicillioides</i>	<i>A. candidus</i> <i>P. aurantiogriseum</i> <i>E. chevalieri</i> <i>E. repens</i> <i>E. rubrum</i>	<i>F. avenaceum</i> <i>E. chevalieri</i> <i>E. repens</i> <i>E. rubrum</i>	<i>F. avenaceum</i> <i>E. chevalieri</i> <i>E. repens</i> <i>E. rubrum</i>	<i>E. chevalieri</i> <i>E. rubrum</i>
<b>Quitosán + Aceite 0.05%</b>	<i>F. subglutinans</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. sambucinum</i> <i>E. chevalieri</i> <i>E. rubrum</i>	<i>E. chevalieri</i> <i>E. repens</i> <i>E. rubrum</i> <i>A. penicillioides</i>	<i>F. avenaceum</i> <i>E. chevalieri</i> <i>E. repens</i> <i>E. rubrum</i>	<i>E. chevalieri</i> <i>E. rubrum</i>
<b>Quitosán + Aceite 0.1%</b>	<i>F. subglutinans</i> <i>Cladosporium sp.</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. avenaceum</i> <i>E. chevalieri</i> <i>E. repens</i> <i>E. rubrum</i>	<i>E. chevalieri</i> <i>E. rubrum</i>	<i>E. chevalieri</i> <i>E. rubrum</i>	<i>E. chevalieri</i> <i>E. repens</i> <i>E. rubrum</i> <i>Papulaspora sp.</i>
<b>Aceite de Tomillo 0.1%</b>	<i>F. subglutinans</i>	<i>F. dimerum</i> <i>F. oxysporum</i>	<i>F. avenaceum</i> <i>Cladosporium sp.</i> <i>E. chevalieri</i> <i>E. rubrum</i>	<i>E. chevalieri</i> <i>E. repens</i> <i>E. rubrum</i> <i>A. penicillioides</i>	<i>F. avenaceum</i> <i>E. chevalieri</i> <i>E. repens</i> <i>E. rubrum</i>	<i>E. chevalieri</i> <i>E. repens</i> <i>E. rubrum</i>
<b>Aceite de Tomillo 0.2%</b>	<i>F. subglutinans</i>		<i>Cladosporium sp.</i> <i>A. awamori</i>	<i>E. rubrum</i>		<i>E. chevalieri</i> <i>A. penicillioides</i>

**3.3 Evaluar el efecto de los tratamientos de a) quitosán, b) quitosán adicionado con aceite esencial de tomillo a dos diferentes concentraciones y c) aceite esencial de tomillo a dos diferentes concentraciones como recubrimiento en granos de maíz sobre la germinación y vigor.**

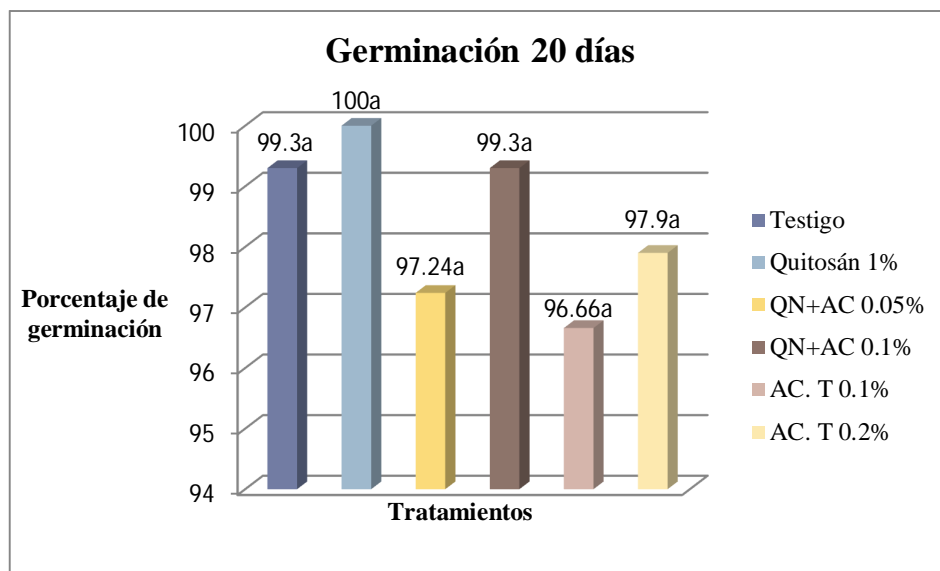
### Prueba de Germinación

A continuación se muestran los resultados obtenidos de porcentaje de germinación del maíz tratado almacenado durante un período de 120 días, a 85% de humedad relativa y 25 °C. Encontrando que todos los tratamientos presentaron una alta germinación por un período de 60 días, sin embargo, a los 80 días se observó una disminución importante por

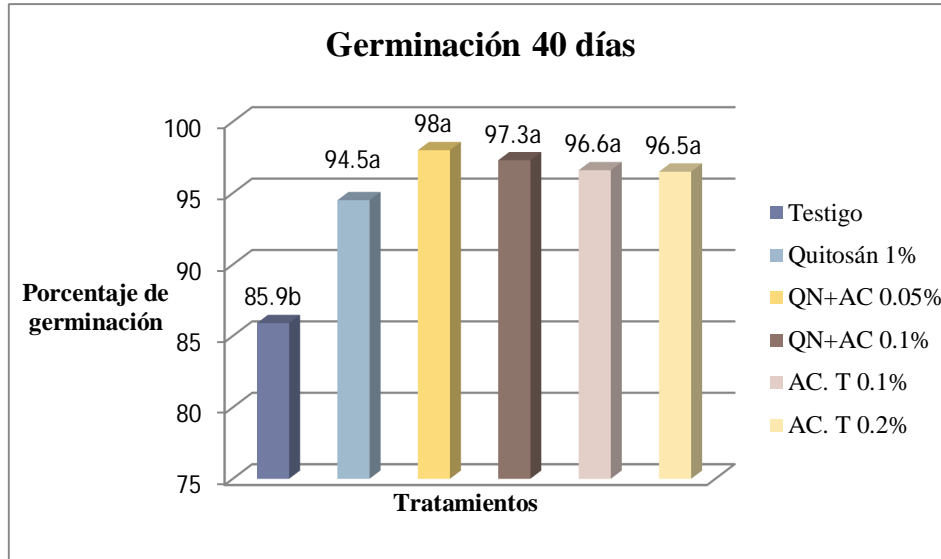
debajo de los límites máximos permitidos de 80% (FAO, 2002), especialmente en los tratamientos de Quitosán 1%, Quitosán + Aceite de tomillo 0.05% y 0.1%. En el caso de los tratamientos de aceite de tomillo al 0.1% y 0.2% conservaron alta su germinación por arriba de los límites máximos permitidos (FAO, 2002).

Es importante señalar que diversos autores mencionan que las semillas tratadas con soluciones de quitosán, mejoran los valores de germinación y contribuyen a mejorar la calidad biológica del grano cosechado, además de producir sustancias que protegen a la semilla contra el ataque de microorganismos sin embargo, en los tratamientos de Quitosán (1%) y Quitosán adicionado con aceite esencial de tomillo en sus dos concentraciones (0.05 y 0.1%), tuvieron un alto grado de germinación, estos efectos mencionados anteriormente se observaron durante los primeros 60 días de almacenamiento en donde el maíz conservó un alto poder germinativo (Figuras 44, 45 y 46) , posteriormente se observó una tendencia importante en la pérdida de germinación después de los 80 días en comparación con el testigo y los demás tratamientos probados bajo estas condiciones de almacenamiento (Figura 47). A pesar de ello la germinación se mantuvo por arriba del 50% similar a lo encontrado por (Guan *et al.*, 2009; Rodríguez *et al.*, 2007, Rivera *et al.*, 2004, Bhaskara *et al.*, 1999; Freepons, 1997).

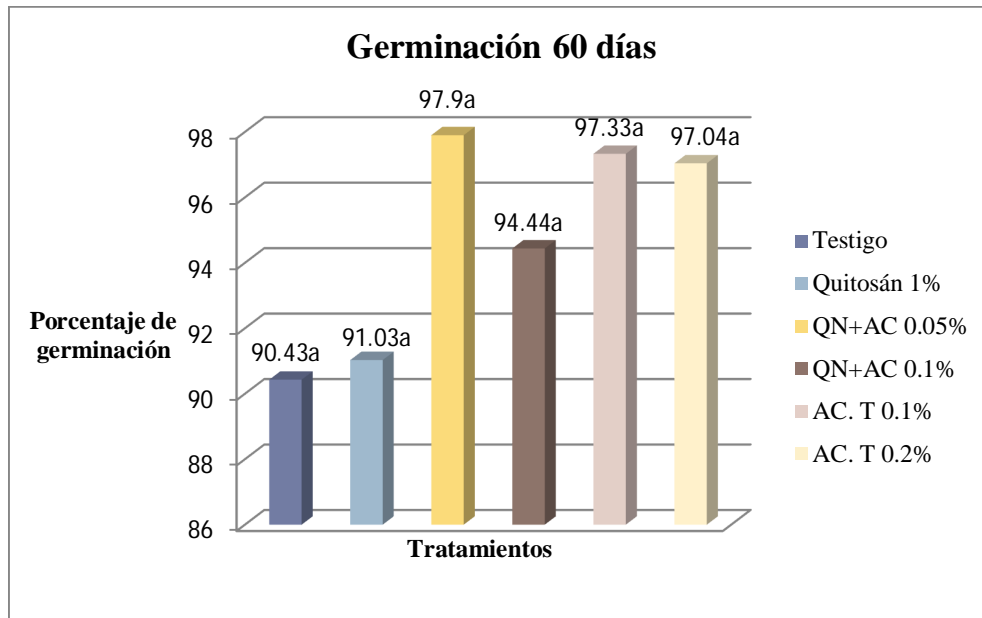
**Figura 44.** Porcentaje de Germinación a los 20 días en los diferentes tratamientos.



**Figura 45.** Porcentaje de Germinación a los 40 días en los diferentes tratamientos.

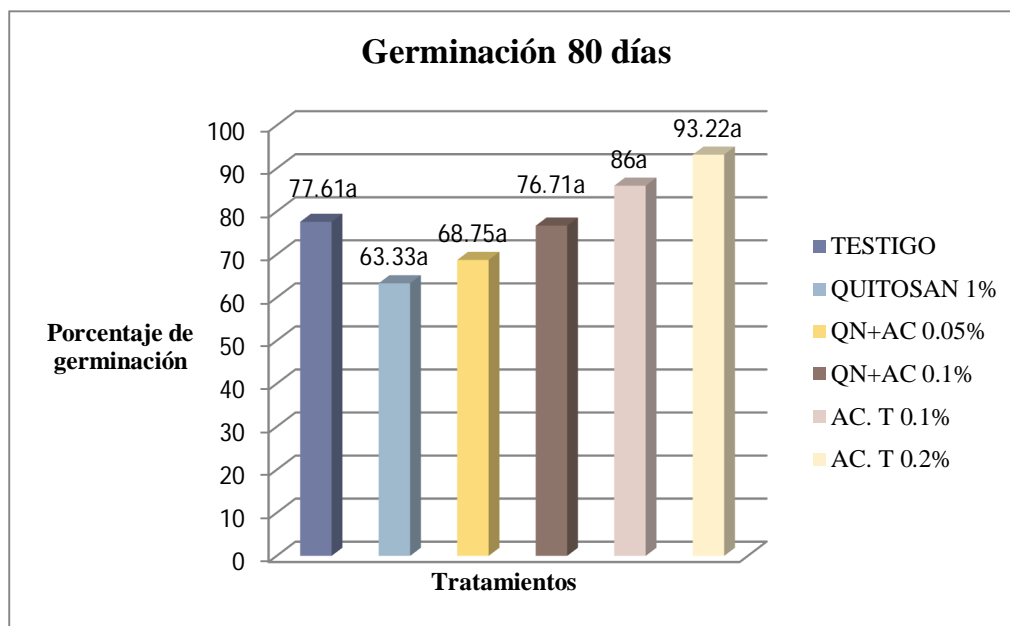


**Figura 46.** Porcentaje de Germinación a los 60 días en los diferentes tratamientos.





**Figura 47.** Porcentaje de Germinación a los 80 días en los diferentes tratamientos.

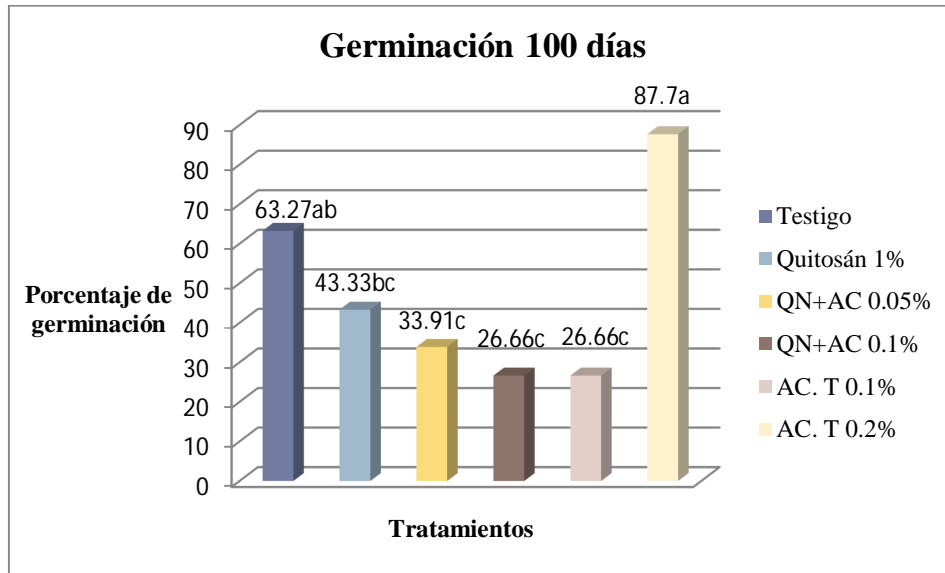


Valores seguidos de la misma letra, no difieren estadísticamente (Tukey,  $p < 0.05$ ).

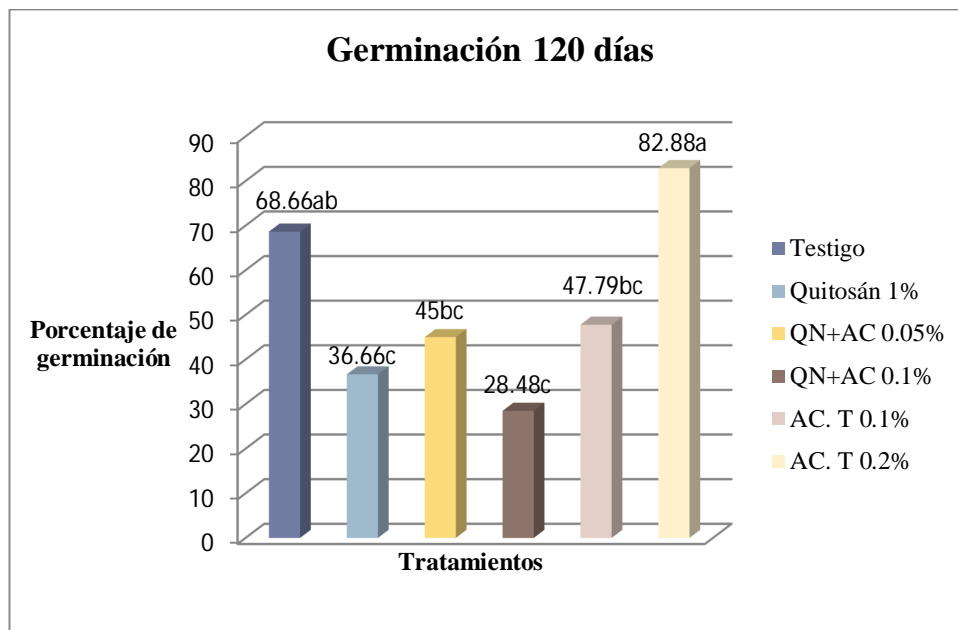
A los 100 y 120 días todos los tratamientos exceptuando el aceite de tomillo al 0.2% continúan disminuyendo de manera significativa su poder germinativo incluso mayor que en el testigo (Figuras 48 y 49), en este período hubo un aumento en el crecimiento de especies del género *Eurotium*, las cuales pudieron ser un factor importante para la disminución de la germinación.

Sin embargo, el tratamiento de aceite de tomillo 0.2% mantuvo un alto porcentaje de germinación durante todo el período de almacenamiento, conservando un 82.9%, por esto podemos mencionar que es el mejor tratamiento para la prueba de germinación ya que de acuerdo con Delouche y con la FAO 2002 una semilla con un porcentaje mínimo de germinación del 80% es considerada con alta calidad biológica.

**Figura 48.** Porcentaje de Germinación a los 100 días en los diferentes tratamientos.



**Figura 49.** Porcentaje de Germinación a los 120 días en los diferentes tratamientos.



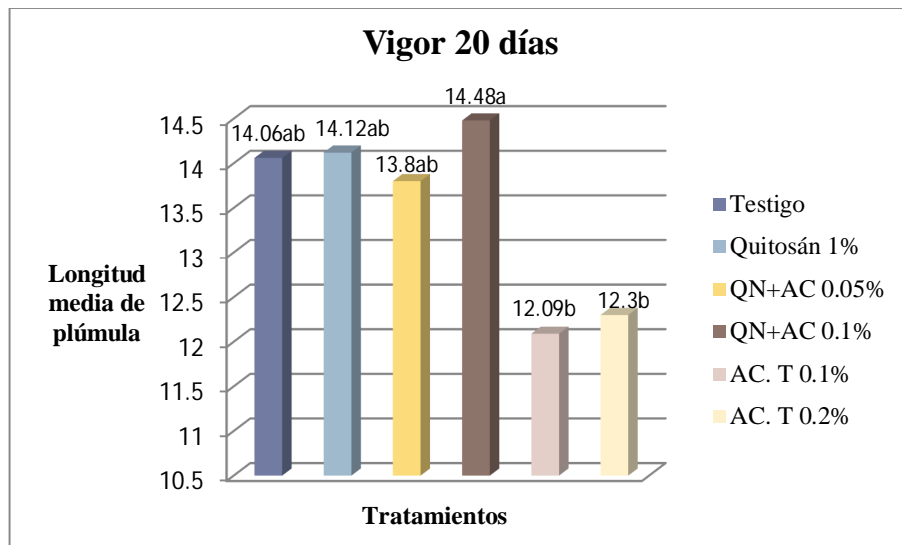
Valores seguidos de la misma letra, no difieren estadísticamente (Tukey,  $p < 0.05$ ).

## Prueba de vigor

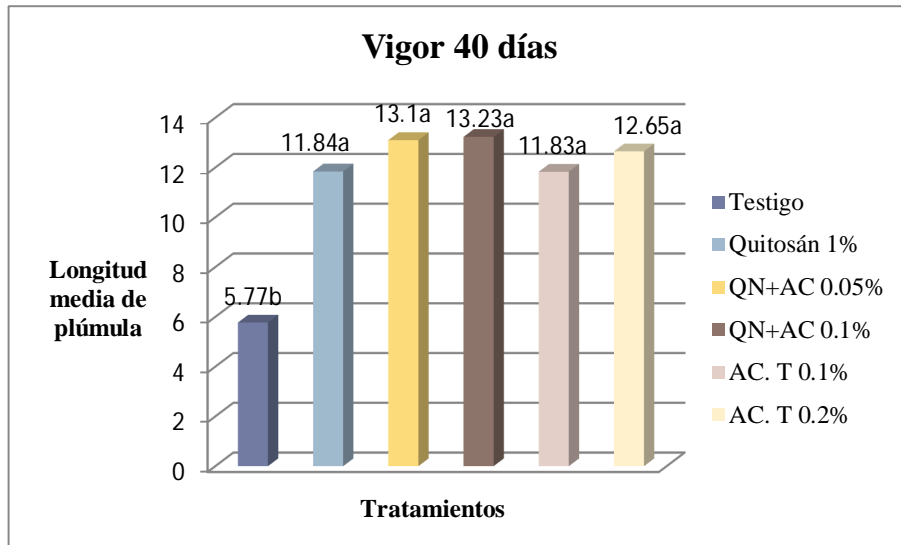
A continuación se muestran los resultados obtenidos de la prueba de vigor por el método de longitud media de plúmula del maíz tratado almacenado durante un período de 120 días, a 85% de humedad relativa y 25 °C. Observando que no existe una tendencia en el crecimiento de la plúmula en los tratamientos, ya que aumentan y disminuyen para cada período.

El vigor comenzó con valores altos en la altura de las plúmulas y se observó para la mayoría de los tratamientos el crecimiento de plántulas amarillas (Figura 50), para los 40 días de almacenamiento lo más notable fue la disminución significativa del testigo (Figura 51) debido a que la mayoría de las semillas de este tratamiento fueron evaluadas como anormales y encontrándose en este una alta cantidad de hongos.

**Figura 50.** Porcentaje de Vigor a los 20 días en los diferentes tratamientos.



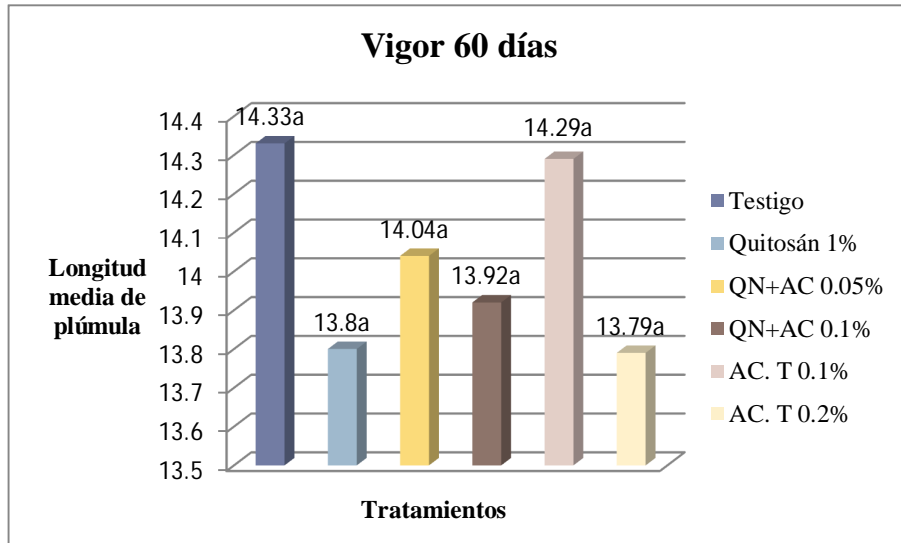
**Figura 51.** Porcentaje de Vigor a los 40 días en los diferentes tratamientos.



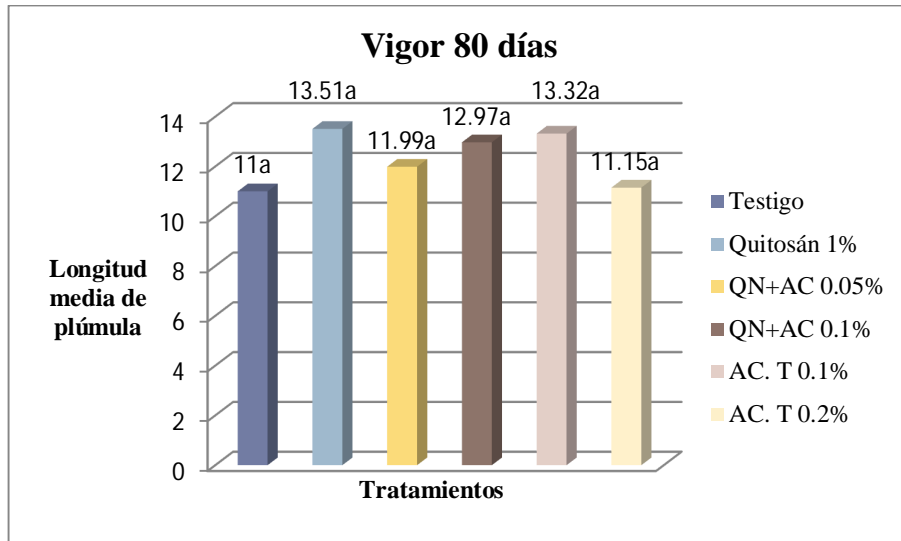
Valores seguidos de la misma letra, no difieren estadísticamente (Tukey,  $p < 0.05$ ).

Para los 60 días de almacenamiento el testigo y los demás tratamientos aumentaron su vigor, encontrándose en algunos tratamientos el crecimiento de plántulas y en otros casos el crecimiento de hongos sin afectar su crecimiento. Además de que para este período el quitosán 1% y QAT 0.05% presentaron su mayor vigor con 13.8 y 14 respectivamente (Figura 52). Para los 80 y 100 días de almacenamiento continuaron aumentando y disminuyendo los tratamientos, sin tener diferencia significativa entre ningún tratamiento (Figuras 53 y 54).

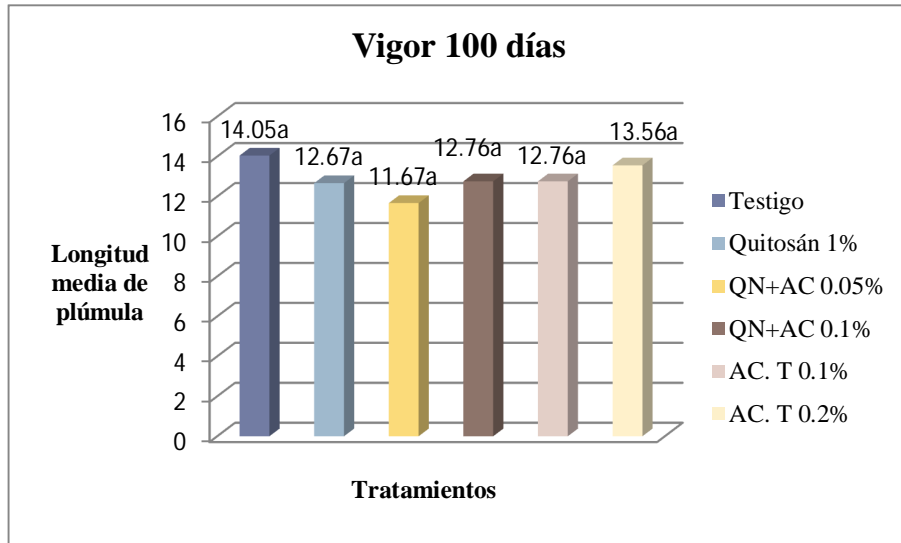
**Figura 52.** Porcentaje de Vigor a los 60 días en los diferentes tratamientos.



**Figura 53.** Porcentaje de Vigor a los 80 días en los diferentes tratamientos.

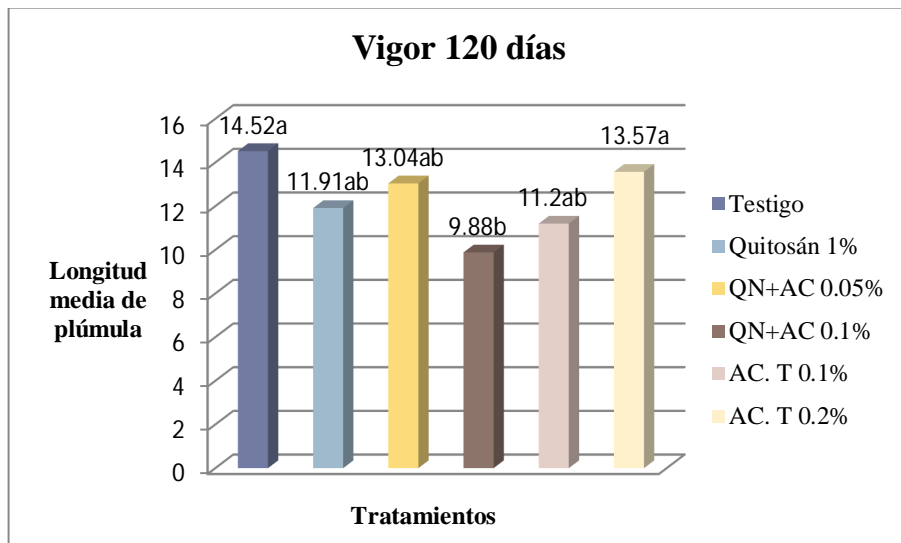


**Figura 54.** Porcentaje de Vigor a los 100 días en los diferentes tratamientos.



El mejor tratamiento para la prueba de vigor fue el aceite de tomillo al 0.2% con 13.6 y el menor porcentaje se presentó en el tratamiento de Quitosán adicionado con Aceite de Tomillo al 0.1% con 9.9 por ciento (Figura 55).

**Figura 55.** Porcentaje de Vigor a los 120 días en los diferentes tratamientos.



Las plántulas más vigorosas fueron las de los tratamientos de quitosán adicionados con aceite de tomillo al 0.1% y el aceite de tomillo al 0.2%.

A pesar de que en las plántulas de maíz evaluadas, no se observó una disminución considerable de la longitud media de plúmula, se observaron algunos síntomas o cambios morfológicos, como amarillamiento (clorosis), pérdida de peso ya que en algunos tratamientos como los casos del quitosán al 1% y quitosán adicionado con aceite de tomillo al 0.05 y 0.1% si hubo crecimiento de plántulas pero estas eran muy delgadas comparadas con las plántulas de las primeras semillas evaluadas, también se presentaron plántulas enfermas debido al enmohecimiento en los tratamientos del testigo y los demás tratamientos exceptuando al aceite de tomillo al 0.2%.

Los factores que causan cambios en el nivel de vigor de la semilla incluyen la constitución genética de ésta, el medio ambiente y nutrición de la planta, deterioro, envejecimiento y patógenos (Perry, 1988).

Una reducción en el vigor de las semillas produce una baja emergencia de plántulas, menor crecimiento y reducción de la población (Rodríguez y Mc Donald, 1989). El vigor de la semilla es el factor más importante para la calidad, por estar relacionada con una germinación más rápida y uniforme y plántulas más vigorosas y competitivas; se sabe que ésta característica se refleja en el rendimiento (AOSA, 1992).

## CONCLUSIONES

- El contenido de humedad alcanzado durante el periodo de almacenamiento fue alto para todos los tratamientos, siendo el Aceite de Tomillo 0.1% y el Quitosán adicionado con Aceite de Tomillo 0.05% los que numéricamente fueron más bajos. Sin embargo no fueron los que presentaron una mejor actividad antifúngica. No observándose una relación directa entre el contenido de humedad y la conservación de la calidad sanitaria y biológica del grano.
- Para el caso de la prueba de germinación todos los tratamientos tuvieron efecto hasta el período de los 60 días de almacenamiento, todos con porcentajes altos en la germinación.
- De acuerdo con los resultados obtenidos en condiciones de almacenamiento en una humedad relativa de 85% y temperatura alta de 25 °C el tratamiento de aceite de tomillo al 0.2% pudo conservar una calidad aceptable de germinación durante 120 días de almacenamiento.
- En la prueba de vigor no se observaron diferencias considerables para ningún tratamiento, para todos el vigor fue moderadamente alto.



## RECOMENDACIONES

- Utilizar concentraciones mayores de quitosán ya que se sabe que tiene un poder antimicrobiano, antifúngico y ayuda a la germinación y el vigor.
- Utilizar quitosán de bajo peso molecular para poder realizar comparaciones.
- Probar con concentraciones más altas de tomillo para comprobar si a concentraciones altas el tomillo no es tóxico para la planta.
- Probar con diferentes variedades de maíz para realizar comparaciones.

## BIBLIOGRAFÍA

- AgroDer.2011. Producción de maíz en México. Consultado en Octubre del 2013.  
Disponible en:  
[http://www.agroder.com/Documentos/Publicaciones/Produccion de Maiz en Mexico-AgroDer\\_2012.pdf](http://www.agroder.com/Documentos/Publicaciones/Produccion_de_Maiz_en_Mexico-AgroDer_2012.pdf). Consultado el 21 de mayo del 2013.
- Ariza F, Leyva GF, Noriega D. 1992. Metodología de investigación para el control física en granos almacenados. V Congreso Nacional sobre Problemas Entomológicos de Granos Almacenados. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. 45-50p.
- Allan, C. R. and L. A. Hardwiger. 1979. The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Experimental Mycology* 3: 285–287.
- AOSA.1992. Seed Vigor Testing Handbook Association Official Seed Analysts Contribution No.32to the handbook of seed testing. USA. 6(2): 1-126.
- Bautista BS, Hernández Lauzardo AN, Velázquez VMG, Bosquez ME y Sánchez DD. 2005. Quitosano: una alternativa natural para reducir microorganismos postcosecha y mantener la vida de anaquel de productos hortofrutícolas. *Revista Iberoamericanade Tecnología Postcosecha* 7: 1-6.
- Banker GS.1996. Film coating theory and practice. *J. Pharm sci.*, 55: 81-89.
- Belloso MO y Rojas GMA. 2006. Recubrimientos comestibles y sustancias de origen natural en manzana fresca cortada: Una nueva estrategia de conservación. Universidad de Lleida.
- Bennett JW, Klich M. 2003. *Mycotoxins*. *Clinical Microbiology Reviews*, 16: 497-516.
- Berghoff, CF. 2011. Desarrollo y caracterización de matrices compuestas quitosán/ polímero sintético para regeneración de tejido óseo. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de la Plata. Argentina. TESIS.
- Bhaskara RMV, Arul J, Angers P, and Couture L.1999. Chitosan treatment of wheat seeds induces resistance to *Fusarium graminearum* and improves seed quality. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 47:1208-1216.
- Bosquez ME, Vernon CJ, Pérez FL, Guerrero L. 2000. Películas y cubiertas comestibles para la conservación en Fresco de Frutas y Hortalizas. *Industria Alimentaria*. 8: 4-36.

- Bosquez ME, Bautista BS, Bautista L. 2009. Aceites esenciales: bioconservadores con alto potencial en la industria alimentaria. Alfa Editores Técnicos. Universidad Autónoma Metropolitana. 15-33.
- Bouhdid S. 2008. Antibacterial and antioxidants activities of *Origanum Compactum* essential oil. African Journal of Biotechnology. 7. No 1, 2008. pp. 1563-1570.
- Butler BL, Vergano PJ, Testing RF, Bunn JM, Wiles JM.1996. Mechanical and Barrier Properties of Edible Chitosan Films as affected by Composition and Storage. Journal of Food Science. 61(5): 453-455.
- Carretero E. 2000. Terpenos: aceites esenciales. Panorama Actual Medicamento. 24:1002-1006.
- Chang YP, Gheah PB, Seow C.C.2000. Plasticizing-Antiplasticizing. Effects of Water on Physical Properties of Tapioca Starch Films in the Glassy State. Journal of Food Science. 65(3): 445-451.
- Chen H. 1995. Functional Properties and Applications of Edible Films Made of Milk Protein. Journal Dairy Science. 78: 2563-2583.
- Chick J y Hernández RJ.2002.Physical, Thermal, Barrier Characterization Casein-Wax-Based Edible Films. Journal of Food Science. 67(3): 1073.
- Christensen DM y Sauer DB. 1982. Microflora. En: Storage of Cereal Grains and their Products. Amer. Assoc. Cereal Chem.
- Conner DE.1993.Naturally occurring compounds. Cap. 13. En: Antimicrobials in foods. 2a. Ed. Davison, M.P. and Branen Incorporated. New York. 441-468.
- Cowan MM.1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinique microbiology. 10:564-582.
- Cuero RG, Osuji G, and Washington A. 1999.N-carboxymethyl chitosan inhibition of aflatoxin production:role of zinc. Biochnology. 13: 441-444.
- Cuq B, Aymard C, Cuq JL, Guilbert S.1995. Edible Packaging Films Based on Fish Myofibrillar Proteins. Formulation and Functional Properties. Journal of Food Engineering. 43: 25-30.
- Delaquis PJ, Stanich K, Girard B y Mazza G. 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractionsof dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oil. International Journal of Food Microbiology. 74: 101-109.

- Delgado B, Fernández A, Periagu P. 2003. Effect on thymol and cymene on *Bacillus cereus* vegetative cells evaluated through the use the frequency distributions. Food Micology. 327-334.
- Delouche JC. 2002. Germinación, deterioro y vigor de semillas. Emérito de Mississippi State University. EUA. Disponible en: [http://www.seednews.inf.br/espanhol/seed66/artigocapa66\\_esp.shtml](http://www.seednews.inf.br/espanhol/seed66/artigocapa66_esp.shtml). Consultado el 15 de agosto del 2013.
- Deng De-xiang. 2009. Genetic Analysis of the Resistance to *Aspergillus flavus* Infection in Maize (*Zea mays L.*). Agricultural Sciences in China. 761-765.
- Dimitra Daferera JN, Basil Z and Moschos P. 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* and *Clavibacter michiganensis subs michiganensis*. Crop Protection 22: 39-44.
- Draughom FA. 2004. Use of botanicals as biopreservatives in foods. Food Technology. 58: 20-28.
- Duke JA. 1985. Handbook of medicinal herbs. CRC Press Inc. USA.
- Evans JD. y Sikdar S.K.1990. Biodegradable plastics: An idea whose time has come. Chem. Tech, 20: 38-42.
- Ellis W O, Smith J P and Simpson BK. 1991. Aflatoxins in food: Occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection, and methods of control. J. Food Sci. Nutr. 30(3): 403-439.
- FAO, 1993. El maíz en la nutrición humana. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/t0395s/T0395s05.htm>. Consultado el 18 de agosto del 2013.
- FAO, 2002. El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Disponible en : <http://www.fao.org/docrep/003/x7650s/x7650s00.htm>. Consultado el 18 de agosto del 2013.
- FIRA, 2010. Maíz: Panorama agro alimentario. Fideicomisos instituidos en relación con la agricultura. Consultado en Agosto del 2013. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/48675834/Maiz-2010>. Consultado el 23 de agosto del 2013.
- FIRA, 2011. Maíz: Panorama agro alimentario. Fideicomisos instituidos en relación con la agricultura. Consultado en Agosto del 2013. Disponible en:

- <http://es.scribd.com/doc/48675834/Maiz-2010>. Consultado el 18 de agosto del 2013.
- Fonnegra MZ.1996. Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de tomillo. Tesis. Microbiología Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá.
  - Fotti M. and Ingold UK. 2003. Mechanism of inhibition of lipid peroxidation by  $\gamma$ -terpinene, an unusual and potentially useful hydrocarbon antioxidant, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 27-58.
  - Freepons D.1997. Plant growth regulators derived from chitin. US Patent 4964894.
  - García MA, Pinotti A, Martino MN, Zaritzky NE. 2004. Characterization of Composite Hydrocolloid Films. *Carbohydrate Polymers*, 56:339-345.
  - Garnica MO. 2001. Permeabilidad al vapor de Agua y Propiedades Mecánicas de Películas Modificadas de Quitosán. TESIS. Ingeniería en Alimentos. UNAM.FES-Cuautitlán.
  - Georgantelis D, Blekas G, Katikou P, Ambrosiadis I, Fletouris DF. 2007. Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Science* 75:256-264.
  - Gómez F. 1995. El papel del fitomejorador en poscosecha. En: El sistema poscosecha de granos en el nivel rural: problemática y propuesta. Editorial Programa Universitario de Alimentos (PUAL), UNAM, México pp. 339-348.
  - González U. 1995. El maíz y su conservación. la edición, editorial Trillas, S. A. de C. V México. 30- 34, 38, 45- 47, 66, 67, 132, 133, 137, 138, 139, 150, 177, 178, 179, 188, 196, 288, 292, 293, 294, 301 p.
  - Goy R, Britto D, Assis O. 2009. A review of the antimicrobial activity of the chitosan. *Journal Polímeros*. 19(3): 241-247.
  - Guan Y, Hu J, Wang X and Shao C. 2009. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. 10: 427-433.
  - Guilbert S. y Biquet B.2005. Películas y envolturas comestibles. Embalaje de los alimentos de gran consumo. Acribia. Zaragoza, España. 268pp.
  - Guilbert S, Gontard N, y Gorris LM.1996. Prolongation of the Shelf-Life of Perishable Food Products Using Biodegradable Films and Coatings. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technology*, 29: 10-17.

- Gûnther E. 1948. The Essential Oils. Vol. 1. History and origin in Plants Production Analysis. Krieger Publising. New York, USA.
- Gvdbiotech. 2009. Disponible en: <http://www.gvdbiotech.com/amibafintro.htm>
- Hernández Lauzardo AN, Bautista BS, Velázquez VMG and Trejo E JL. 2006. Identification of *Rhizopus stolonifer* Ehreb. Lind causal agent of *Rhizopus rot* disease of fruits and vegetables. Revista Mexicana de Fitopatología. 24: 65-69.
- Hien N, Phu D, Duy N. 2012. Degradation of Chitosan in solution by gamma irradiation in the presence of hydrogen peroxide. Journal Carbohydrate Polymers. 87(1): 935-938.
- Hirano A. and Nagano N. 1989. Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme, and chitinase on the growth of several phytopathogens. Agricultural and Biological Chemistry 11: 3065-3066.
- Hitokoto H, Morozumi S, Wauke T, Sakai S y Kurata H.1980. Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi. Applied Enviroment Microbiology. 39: 818-822.
- Horvath G. 2008. Horvath, Gyorgyi. Essential oil composition of three cultivated thymus chemotypes from Hungary. J. of essential oils Research. JEOR, 2008. Disponible en: [indaarticles.com](http://indaarticles.com)
- Hoseney R. C. 1991. Principios de ciencia y tecnología de los cereales. Editorial Acribia, S. A, Zaragoza, España. 10, 109, 116, 117, 124, 125, 126 p.
- Hoyos R. y Urrego L. 1997. Empaques y/o películas comestibles y biodegradables. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. 107 pp.
- International Seed Testing Association (ISTA).2010. International rules for seed testing. Bassersdorf,Switzerland.
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF y Donoghue MJ. 2002. Secondary Plant Compounds. En: Plant Systematics: A Phylogenetic Approach. 2<sup>nd</sup>. Ed. Sinauer Axxoc. 4:115-116.
- Kasaai M. 2007. Calculation of Mark Houwink Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent-temperarure systemusing experimental reported viscosity, molecular weight, viscometric constants. Journal Carbohydrate Polymers. 68(3): 477-488.
- Kishore KG. and S. Pande, 2007. Evaluation of Essential Oils and Their Components from Broad- Spectrum Antifungal Activity and Control of Leaf Sport and Crown Rot Diseasses in Peanut. Plant. Dis. 91: 375-379.

- Krochta J.M.2002. Proteins as Raw Materials for Films and Coatings: Definitions, Current Status and Opportunities. En: A. Protein-Based Films and Coatings. Ed. Gennadios. CRC Press. USA.
- Langer RHM. 1987. Plantas de interés agrícola"; editorial acribia; España. 46-56 p.
- Lárez VC.2006. Quitina y quitosán, materiales del pasado para el presente y el futuro. Avances en química, 1(2): 15-21.
- Leslie JF and Sumerell BA. 2006. The Fusarium Laboratory Manual Blackwell Publishing.
- Leuba L, Barrera N, Bautista S, Rivero BD, Bosquez ME. 1986. Propiedades Químico-Estructurales y actividad biológica del quitosán en microorganismos fitopatógenos. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba.
- Li, Fang Tian, Bo Li, Baoping Ji, Jinhua Yang, Guizhi Zhang, Yang Chen, Yangchao Luo. 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinensis*: The polarity affects the bioactivities. Food Chemistry, Volume 113, Issue 1, 1 March 2009, 173-179.
- Liu JS, Tian, Menga and Xua Y. 2007.Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. Postharvest Biology and Technology 44: 300-306.
- Llanos M Company. 1984. El maíz su cultivo y aprovechamiento. ediciones Mundi-Prensa; Esp. Madrid; 63, 64, 229, 231, 244, 245 p.
- López L. 2006. Usos terapéuticos del tomillo. Revista de Ámbito Farmacéutico: fitoterapia. Vol. 25 Num. 1.
- Maren AK.2002. Identification of Common Aspergillus Species. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service, Southern Regional Research Center. New Orleans, Louisiana USA. 116 pag.
- MasAgro, Modernización Sustentable de la Agricultura Tradicional; 2013. Disponible en: <http://conservacion.cimmyt.or/index.php/es/boletin-ac/753-mas-grano-y-menos-perdidas-poscosecha-con-masagro>. Consultado el 10 de mayo del 2013.
- Mathur SB y Komgsdal O. 2003. Common Laboratory Seed Health Testing Methods for Detecting Fungi. Suiza.
- Mc Hugh TH y Krochta JN.1994. Milk Protein-Based edible films and coating. Food Technol. 52: 97-103.
- Méndez TLJ. 2011. Micomicosis. Laboratorio de Investigación Médica, Hospital de Especialidades C.M.N. Siglo XXI.

- Miranda CSP. 2000. Evaluación de la actividad antimicrobiana de quitosán, caracterización física y químicamente. TESIS Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. Edo. De México.
- Morales, O.G., Ramírez, J.A., Vivanco, D.I. and Vazquez, M. 2001. Surimi of fish species from the gulf of Mexico: evaluation of the setting phenomenon. Food Chem. 75, 43-48.
- Moreno ME. (1988). Manual para la identificación de hongos. Mexico, D.F.: UNAM.
- Moreno ME. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. UNAM, México, DF, pp 15-24.
- Moreno ME. 1991. La investigación en postcosecha de granos y semillas. Memorias del II Reunión Nacional sobre la Problemática de Postcosecha de Granos y Semillas, A.C., Programa Universitario de Alimentos. UNAM, México, DF, pp 1-4.
- Moreno O J y Kang M S. 1999. Aflatoxins in maize: The problem and genetic solutions. Plant Breeding, 118: 1-16.
- NMX-FF-034/1-SCFI-2002 Productos alimenticios no industrializados para consumo humano - cereales – parte i: maíz blanco para proceso alcalino para tortillas de maíz y productos de maíz nixtamalizado- especificaciones y métodos de prueba.
- Nychas GJE. 1995. Natural antimicrobials from plants. En: New Methods of Food Preservation. Gw Gould(Ed.). Blackie Academic and Profesional. Glasgow. Escocia. 58-89.
- Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini S. 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan essential oil with low affinity toward waterl. Food Chemistry. 34: 210-233.
- Palma G.J, Jansson H.B, Salinas J and López Ll. 2008. Effect of chitosan on hyphal growth and spore germination of plant pathogenic and biocontrol fungi. Journal of Applied Microbiology 104: 541-553.
- Paredes LO.1994. Películas protectoras para frutos. Tecnologías de Alimentos. 56(3): 987.
- Parsons BD. 1991. Maíz. Editorial Trillas. México. 11-16, 46-50 p.
- Peña SD y Duran MC. 1990. Efecto tóxico de las aflatoxinas en la dieta. Ciencia y Desarrollo. 16 (94): 61-73.



- Perry DA.1988. El concepto del vigor de la semilla y su relevancia con respecto a las técnicas de producción de semilla. Producción moderna de semillas. Tomo II. Editorial Agropecuaria. Montevideo, Uruguay. 693-701.
- Pitt JI. 1979. The Genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation Division of Food Research. Academic Press. 618 pag.
- Ramírez GM. 1984. Almacenamiento y conservación de granos y semillas. CIA editorial continental, S. A. de C. V. México. 16-53 p.
- Reyes V., WP.; Nuño R., A.; Ramírez A., A and A.V. González A. (2000). Detección de *Fusarium moniliforme* y Fumonisinás en tres híbridos de maíz en Ameca, Jalisco. *Scientia-Cucba*. 2(1): 594-603.
- Rinaudo M. 2006. Chitin and Chitosan. Properties and applications. *Progress in polymer science*. 31(7): 603-632.
- Rivera AV, Godínez AH, Cachex M and Rodríguez ZS.2004. Physical effects of biological soil crusts on seed germination of two desert plants under laboratory conditions. *Journal of Arid Environments*. 63: 344-352.
- Rodríguez A and McDonald MB. 1989. Seed quality influence on plant growth and dinitrogen fixation on redfield bean. *Crop science*. 29: 1309-1314.
- Rodríguez OC, Franco M and Mandujano MC.2007. Serotiny and seed germination in three threatened species of *Mammillaria*. *Basic and Applied Ecology*. 7: 533-544.
- Roller S. and Covill N. 1999. The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *International Journal of Food Microbiology* 47:67-77.
- Rudrapatnam N, Tharchatan, Farooqahmed S, Kittur. 2003. Chitin. The undisputed biomolecule of great potential. *Critical reviews in food science and nutrition*. 43(1): 61-87.
- SAGARPA, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. "Producción de maíz por estado". 2011 y 2012. Disponible en: [www.sagarpa.gob.mx/](http://www.sagarpa.gob.mx/). Consultado el 29 de marzo del 2013.
- Schneider K.1995. Recomendaciones para el almacenamiento (problemas y manejo). Programa regional de postcosecha. Cooperación Suiza al desarrollo. Managua. 50p.

- Senatore F, Napolitano F, Mohamed MA, Harris PJC, Mnkeni PNS y Henderson J. 2004. Antibacterial activity of *tagetes minuta* L. (*Asteraceae*) essential oil with different chemical composition. *Flavor and Fragamces. Journal.* 19: 574-578.
- Serna SO. 2001. Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. AGT editores México. 1-17 p.
- Shahidi F, Vidana AJ, Leon YJ. 1999. Food applications of Chitinand Chitosans. *Trends in food Science Technology.* 10: 37-51.
- SIAP, Servicio de información agro alimentaria y pesquera. 2011. "Producción de maíz por estado". Disponible en: [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=con\\_wrapper&view](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=con_wrapper&view). Consultado el 18 de agosto del 2013.
- SIAP, Servicio de información agro alimentaria y pesquera. 2012. "Producción de maíz por estado". Disponible en: [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=con\\_wrapper&view](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=con_wrapper&view). Consultado el 18 de agosto del 2013.
- Stachenko E. 2005. Evaluación de la actividad antioxidante de aceites esenciales en emulsiones degradadas por radiación ultravioleta. *Revista colombiana de química.* V. 34 No 1, 2005. pp. 43-55.
- Sutton BC.1980. The coelomycetes Fungi imprtfect with *Pycaidia Acervui* and *Stiomata*. Commonwealth Mycological Institute Knew Surrey. England.
- Sweeney JM. And Dobson ADW. 1998. Myxcotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Pencillium* species. *J. Food Microbiol.* 43:141-158.
- Templeton W.1969. The monoterpenoids. En: *An introduction to the Chemistry of steroids.* Butterworths, London. 41-70.
- Ultee A, Bennik M, Moezelaar R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food. Bornepathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology.* 1561-1568.
- Vachon C, Aprano GD, Lacroix M, Letendre M (2003) Effect of edible coating process and irradiation treatment of strawberry *fragaria* spp. on storage-keeping quality. *J. Food Sci.* 68: 608-612.
- Watanabe Tsuneo. 2010. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of cultures Fungi and Key to Species. Segunda y Tercera Edición. Editorial CRC Press. Taylor and Francis Group. Pag. 404.

- Wu ACM, Bough WA, Salter WL. 1978. Influence of manufacturing variables on the characteristics and effectiveness of chitosan products. I. Chemical composition, viscosity, and molecular-weight distribution of chitosan products. *Biotechnology and Bioengineering*. Volume 20, Issue 12, pages 1931-1943.
- Yanishlieva Emma M, Marinova, Nedyalka V, Yanishlieva. 1999. Antioxidant activity and mechanism of action of some phenolic acids at ambient and high temperatures. *Food Chemistry*, Volume 81, Issue 2, 2003, Pp. 189-197.

## ANEXOS

### Preparación de medios de cultivo

#### Medio para la micobiota.

##### Malta Sal Agar (MSA)

-20 g Extracto de Malta

-20 g Agar

-60 g Cloruro de sodio

-1000 ml de agua destilada

Esterilice a 20 minutos a 15 libras de presión y 121 °C. Cuando el medio esté casi frío viértalo en las cajas petri.

#### Medios para la identificación del género *Fusarium*

##### Infusión de Papa Dextrosa Agar (PDA)

Para preparar este medio con papas naturales se procede de la siguiente manera. Se lavan de 200 a 300 gramos de papas, no es necesario pelarlas, rebánelas y hiérvalas hasta que estén suaves, y exprímalas a través de dos a tres capas de manta delgada (gasa). Reciba el filtrado en un matraz, añada 20 g de dextrosa y 20 g de agar, afore a un litro con agua destilada. Esterilice a 20 minutos a 15 libras de presión y 121 °C. Cuando el medio esté casi frío viértalo en las cajas petri.

##### Hojas de Clavel Agar (CLA)

-Pedazos de hojas de clavel de 3-5 mm

-Agar 20 g

-Agua destilada 1000 ml

Cortar las hojas de clavel en pequeños pedazos de 3- 5 mm. Secar en una estufa de aire forzado durante 3 a 4 horas a 70 °C o en horno d microondas, el tiempo varía en este último.

Colocar los pedazos en papel aluminio y esterilizar en autoclave a 121 °C por 15 libras de presión durante 20 minutos.

Vaciar en condiciones de asepsia el agar agua y colocar 4 pedazos de las hojas del clavel sobre el medio.

## **Medios para la identificación del género *Aspergillus***

### **Agar Czapek Levadura (CYA)**

- 1.0 g  $K_2HPO_4$
- 10 ml Czapek concentrado
- 5 g de Extracto de levadura
- 30 g Sucrosa
- 15 g Agar
- 1000 ml Agua destilada

### **Agar extracto de levadura malta (EMA)**

- 20 g Extracto de Malta
- 1.0 g Peptona
- 20 g Glucosa
- 20 g Agar
- 1000 ml de agua destilada

### **Agar Czapek (CZ)**

- 1.0 g  $K_2HPO_4$
- 10 ml Czapek concentrado
- 30 g Sucrosa
- 17.5 g Agar
- 1000 ml Agua destilada

### **Agar Czapek levadura con 20% de sucrosa (CY20s)**

- 1.0 g  $K_2HPO_4$
- 10 ml Czapek concentrado
- 5 g de Extracto de levadura
- 200 g Sucrosa
- 15 g Agar

-1000 ml Agua destilada

**Medios para la identificación del género *Penicillium***

**Agar Czapek Levadura (CYA)**

-1.0 g  $K_2HPO_4$

-10 ml Czapek concentrado

-5 g de Extracto de levadura

-30 g Sucrosa

-15 g Agar

-1000 ml Agua destilada

**Agar extracto de levadura malta (EMA)**

-20 g Extracto de Malta

-1.0 g Peptona

-20 g Glucosa

-20 g Agar

-1000 ml de agua destilada

**Agar extracto de glicerol al 25% (G25n)**

-0.75 g  $K_2HPO_4$

-7.5 ml Czapek concentrado

-3.7 g de Extracto de levadura

-250 g Glicerol grado analítico

-12 g Agar

-1000 ml Agua destilada

# **Características Macroscópicas**

## *Aspergillus flavus*

Subgénero: *Circumdati* Sección: *Flavi*

### Enfermedad

Pudrición en la mazorca y en el almacenamiento.

### Distribución

En todo el mundo.

### Importancia

**Producción:** Principal causa de deterioro del maíz almacenado con un contenido de humedad superior a los 15%. La sequía y las altas temperaturas favorecen el desarrollo de aflatoxinas que son tóxicas para el ser humano y los animales y afectan el buen sabor del grano. La infección de la semilla puede reducir la germinación.

### Identificación

Diámetros de las colonias a los 7 días, en mm: **CYA25** (45) 65-70; **MEA** (50) 65-70; **CY20S** 65-70; **CYA37** (50) 55-65; **CZ** 55-65.

### Característica distintiva.

Forma colonias de color verde amarillo con conidióforos de paredes lisas a finamente rugosa, conidios 3-6  $\mu\text{m}$  de diámetro son las características más distintivas de esta especie.

La colonia en la semilla por lo general se propaga rápidamente y es de color verde amarillento muy claro, café oliváceo o café.

Los conidióforos hinchados en el ápice producen numerosas células.

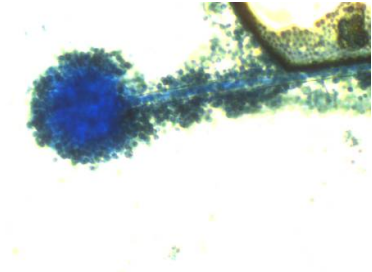
### Características microscópicas.

Cabezas conidiales radiales. **Conidióforos** (250) 400-800 (2500) x 8-17  $\mu\text{m}$  en longitud, las paredes suelen ser bastante ásperas, a veces finamente rugosas, generalmente incoloras, a veces café claro; **vesículas** de esféricas a

alargadas (12) 20-45 (85)  $\mu\text{m}$  de ancho; variable en seriación, la mayoría de los aislamientos con al menos 20% **biseriados** en CYA25, algunas casi en su totalidad **uniseriadas** en MEA; las métulas cubren las tres cuartas partes de toda la superficie de la vesícula, (6) 8-10 (16) x (4) 5-7 (9)  $\mu\text{m}$ ; fiálides 7-12 x (2.5) 3-4 (5)  $\mu\text{m}$ . **Conidios** globosos a elipsoidales 3-6 (8)  $\mu\text{m}$ , con la pared lisa a finamente rugosa.



Colonia en grano de maíz.



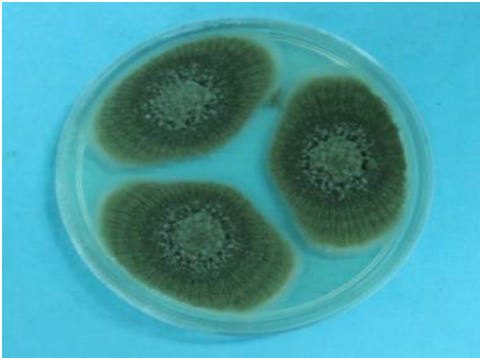
*Aspergillus flavus* en maíz  
10x.

### Clave rápida

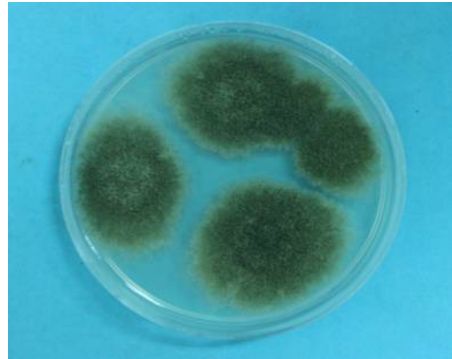




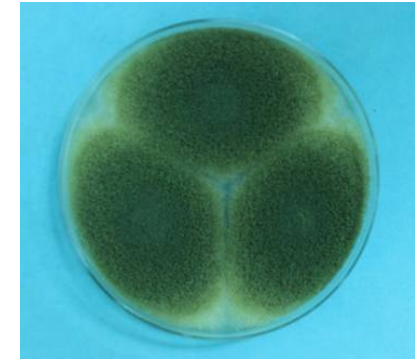
**Características macromorfológicas  
de *Aspergillus flavus***



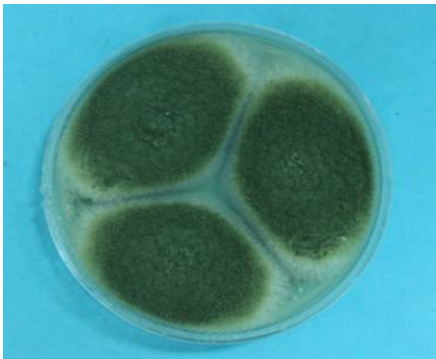
Colonias de *A. flavus* en medio de cultivo  
CYA 37°C.



Colonias de *A. flavus* en medio de cultivo  
CZ.



Colonias de *A. flavus* en medio de cultivo  
CY20s.



Colonias de *A. flavus* en medio de cultivo  
CYA 25°C.



Colonias de *A. flavus* en medio de cultivo  
MEA.

## *Penicillium commune*

**Subgénero:** *Penicillium* **Sección:** *Viridicata* **Series:** *Camemberti*

### **Características microscópicas.**

Los **Conidióforos** nacen simples de las hifas del subsuelo, mide de 100 - 200x 2,5 a 4,0  $\mu\text{m}$ , con paredes lisas a finamente rugosas, por lo general es terverticilado, pero a veces es biverticilado o irregular; ramas 2 por penicillus, 10-20 x 3.0-4.0  $\mu\text{m}$ ; métula en verticilos de 2 a 5, miden 8-12 (-15) x 3.0-4.0  $\mu\text{m}$ ; fiálides 4 a 8 por métula, 7-9x 2.5-3.0  $\mu\text{m}$ , conidios esferoidales a subesferoidales, comúnmente 3.0-4.0 de diámetro, paredes lisas, se encuentran en cadenas desordenadas.

### **Colores y texturas de las colonias.**

**CYA, 25 °C, 7 días:** Colonias de 25 a 30 mm de diámetro, profundamente surcada y radiada, centralmente

umbonada o crateriforme, la superficie es baja y densa y la textura aterciopelada; márgenes bajos y estrechos; micelio blanco discreto; conidiogénesis moderada, en las zonas marginales de gris verdoso a verde opaco o cerca de verde almendra o verdoso entre rey y gris; exudado a veces presentes en pequeñas cantidades; pigmentos solubles ausentes; reverso de color naranja opaco a marrón rojizo.

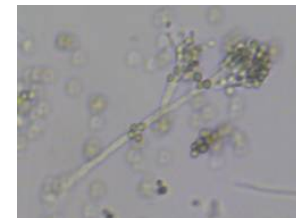
**MEA, 25 °C, 7 días:** Colonias de 22 a 28 mm de diámetro, plano o ligeramente surcada, baja y densa, superficie aterciopelada o con menos frecuencia ligeramente flocosa, no fasciculada; márgenes bajos y estrechos; micelio blanco y discreto; conidiogénesis moderado, de color verde opaco o grisáceo a verde pistache; exudados y

pigmentos solubles ausentes; reverso de color naranja opaco a café.

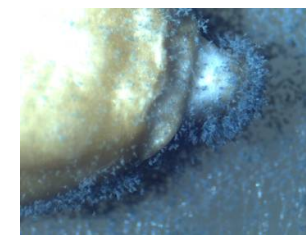
**G25N, 25 °C, 7 días:** Colonias de 20 a 22 mm de diámetro, ocasionalmente plano, sulcado o convoluto, bajos a moderadamente profundos, denso, velutinoso a ligeramente floccoso; micelio de color blanco a amarillento; conidiogénesis de ligeras a moderadas, en colores similares a los de las colonias en CYA o algunas veces cafés; exudados ausentes; reverso de naranja pálido a café.

**CYA, 5 °C, 7 días:** Formación de microcolonias; colonias típicamente macroscópicas de 2 a 4 mm de diámetro.

**CYA, 37 °C, 7 días:** No crece.

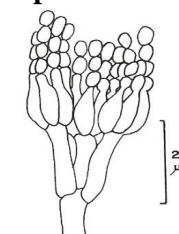


*Penicillium commune* maíz  
20x.



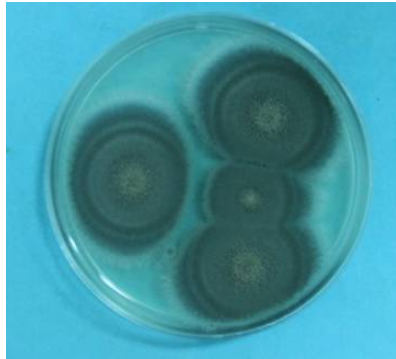
*Penicillium* en grano tratado con Q1% a los 60 días.

### **Clave rápida**



*Penicillium ssp*

**Características macromorfológicas  
de *Penicillium commune***



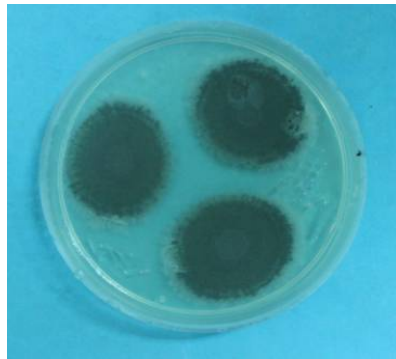
Colonias de *P. commune* en medio de cultivo G25n.



Colonias de *P. commune* en medio de cultivo CYA 25°C.



Colonias de *P. commune* en medio de cultivo CYA 5°C.



Colonias de *P. commune* en medio de cultivo MEA.



Colonias de *P. commune* en medio de cultivo CYA 37°C.

## *Penicillium aurantiogriseum*

**Subgénero:** *Penicillium* **Sección:** *Viridicata* **Series:** *Viridicata*

### **Características microscópicas.**

Los **Conidióforos** nacen simples de las hifas del subsuelo, miden de 100 - 200x 2,5 a 4,0 µm, con paredes lisas a finamente rugosas, por lo general es terverticilado, pero a veces es biverticilado o irregular; ramas 2 por penicillus, 10-20 x 3.0-4.0 µm; métula en verticilos de 2 a 5, medición 8-12 (-15) x 3.0-4.0 µm; fiálides 4 a 8 por métula, 7-9x 2.5-3.0 µm, conidios esferoidales a subesferoidales, comúnmente 3.0-4.0 µm de diámetro, paredes lisas, se encuentran en cadenas desordenadas.

### **Colores y texturas de las colonias.**

**CYA, 25 °C, 7 días:** Colonias de 30 a 35 mm de diámetro, de vez en cuando un poco más pequeña, de manera visible

radialmente sulcada, moderadamente profunda, con textura de superficie lisa a granular a simple vista, micelio blanco, pero visto con bajo aumento presenta principalmente de fascículos de conidióforos inmaduros; ocasionalmente las colonias presentan una apariencia flocosa; de gris turquesa a verde opaco, o entre azul-verde a gris, algunas veces en tonos más claros o más brillante en los márgenes y marrones en el centro; exudados típicamente sobresalientes al menos cerca de los márgenes, y rara vez totalmente ausente; el reverso varía de aislamiento a aislamiento, de color pálido, naranja brillante a rojizo o violeta café.

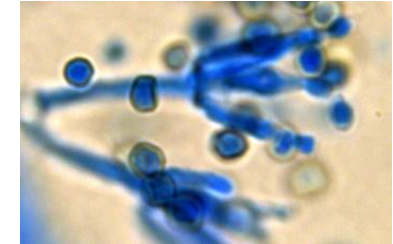
**MEA, 25 °C, 7 días:** Colonias de 25 a 35 mm de diámetro, planas o ligeramente sulcadas, algunas veces umbonadas en el centro, relativamente escasa

con textura de la superficie finamente granular a simple vista.

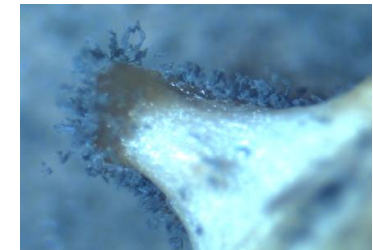
**G25N, 25°C, 7 días:** Colonias de 20 a 22 mm de diámetro, ocasionalmente plana, sulcada o convoluto, bajas a moderadamente profundas, densa, velutinosa a ligeramente flocosa; micelio de color blanco a amarillento; conidiogénesis de ligera a moderada, en colores similares a los de las colonias en CYA o algunas veces cafés; exudados ausentes; a veces produce pigmentos solubles de color naranja a café; reverso de naranja pálido a café.

**CYA, 5 °C, 7 días:** Formación de microcolonias; colonias típicamente macroscópicas de 2 a 4 mm de diámetro.

**CYA, 37 °C, 7 días:** No crece.

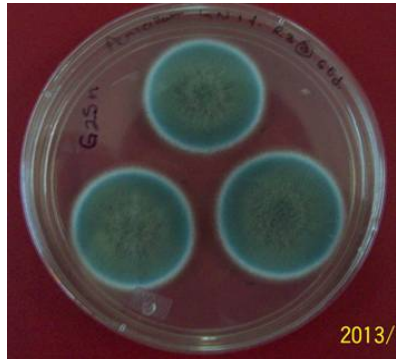


*Penicillium aurantiogriseum*  
fiálides maíz 100x.

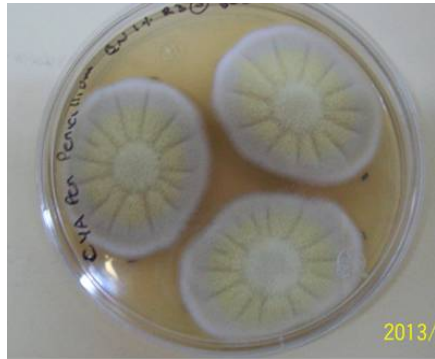


*Penicillium* en grano.

## Características macromorfológicas de *Penicillium aurantiigriseum*



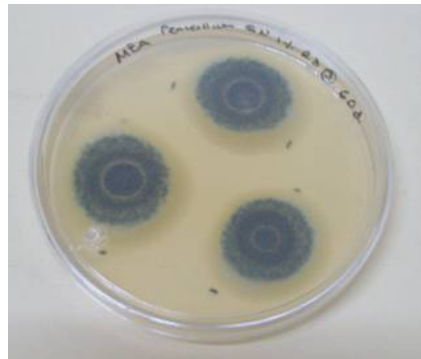
Colonias de *P. aurantiigriseum* en medio de cultivo G25n.



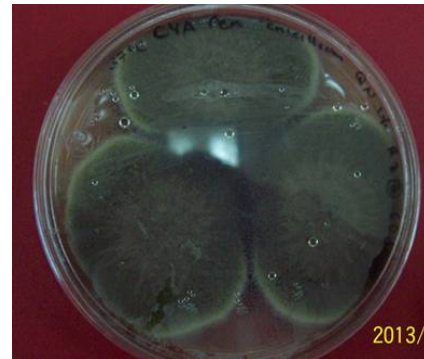
Colonias de *P. aurantiigriseum* en medio de cultivo CYA 25°C.



Colonias de *P. aurantiigriseum* en medio de cultivo CYA 5°C.



Colonias de *P. aurantiigriseum* en medio de cultivo EMA.



Colonias de *P. aurantiigriseum* en medio de cultivo CYA 37°C.



## *Aspergillus awamori*

Subgénero: *Circumdati* Sección: *Nigri*

### Identificación

Diámetros de las Colonias a los 7 días, en mm: **CYA25** (58) 60-70; **MEA** (55) 60-70; **CY20S** 60-70; **CYA37** (62) 65-70; **CZ** 30-60.

### Característica distintiva.

Colonias de color café oscuro a casi negro, las cabezas conidiales biseriadas y los conidios de lisos a finamente rugosos.

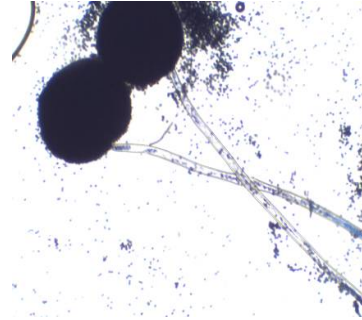
### Características

**microscópicas.** Cabezas conidiales radiadas al madurar se separan formando columnas, miden 300-1500x 7-17  $\mu\text{m}$ , paredes lisas, incoloras o ligeramente pigmentado cerca de los ápices; **vesículas** globosas (14) 20-40 (55)  $\mu\text{m}$ ; principalmente **biseriadas**; méticas de (6) 10-20 (25) x 4-8  $\mu\text{m}$ , sobre al menos la mitad superior de la vesícula; fiálides (5) 6-9 (10)x 2.5-4  $\mu\text{m}$ . **Conidios** de diámetro

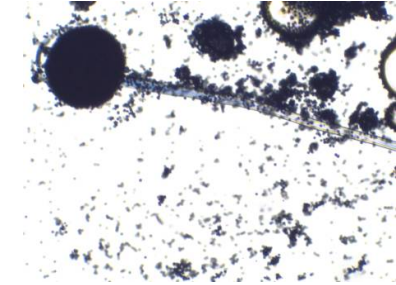
(3.5) 4-5 (6)  $\mu\text{m}$ , esféricos, lisos a delicadamente rugosos.

### Colores y Texturas de las colonias.

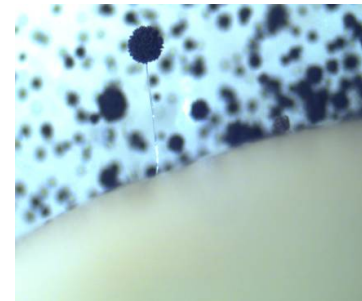
Conidios en **CYA25** de color café oscuro a casi negro; micelio blanco a amarillo, por lo general poco visible, a veces flocosa; pequeñas gotas de hialina de color marrón rojizo oscuro exudado a veces visible; reverso café opaco, amarillo opaco, amarillo intenso a marrón gris; pigmentos solubles amarillo opaco cuando están presentes, colonia baja, velutinosa a granular, a veces radialmente sulcada, de vez en cuando un poco fluocosa. **MEA**, conidios de color café oscuro a negro; micelio a penas visible, colonias planas. Colonias en **CY20S**, **CYA37** y **CZ** similar en morfología a los **CYA25**, sin embargo, al reverso en **CYA37** era de color café oscuro a negro.



*Aspergillus awamori* 10x en maíz tratado con aceite de tomillo al 0.2%.

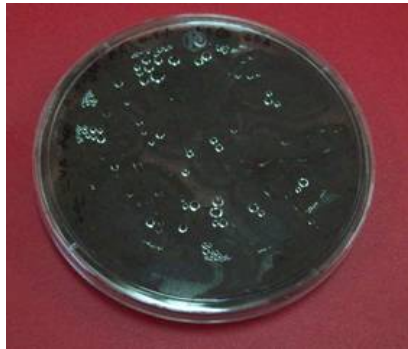


*Aspergillus awamori* 10x.

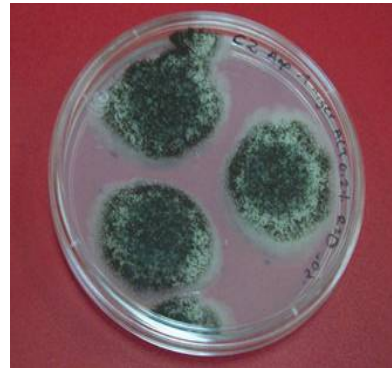


*Aspergillus awamori* cabezuelas en maíz con aceite de tomillo 0.2%, 60 días de almacenamiento.

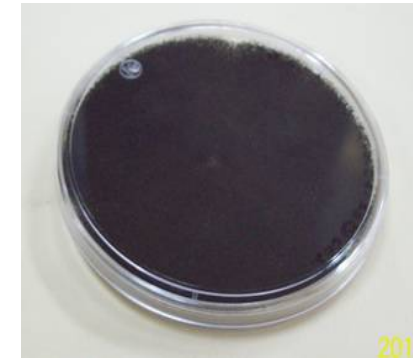
**Características macromorfológicas de**  
*Aspergillus awamori*



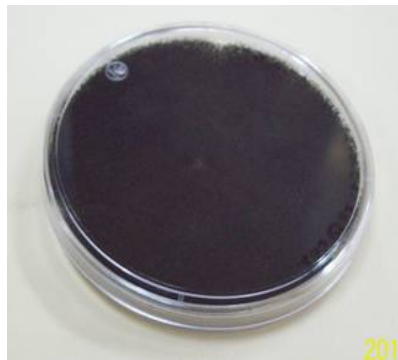
Colonias de *A. awamori* en medio de cultivo CYA 37°C.



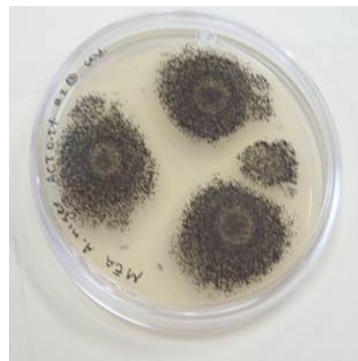
Colonias de *A. awamori* en medio de cultivo CZ.



Colonias de *A. awamori* en medio de cultivo CY20s.



Colonias de *A. awamori* en medio de cultivo CYA 25°C.



Colonias de *A. awamori* en medio de cultivo EMA.

## *Aspergillus candidus*

Subgénero: *Circumdati* Sección: *Candidi*

### Identificación

Diámetros de las Colonias a los 7 días de incubación, en mm: **CYA25** (13) 15-28; **MEA** 14-23 (26); **CY20S** (14) 19-33; **CYA37** 0-25; **CZ** (12) 14-27.

### Característica distintiva.

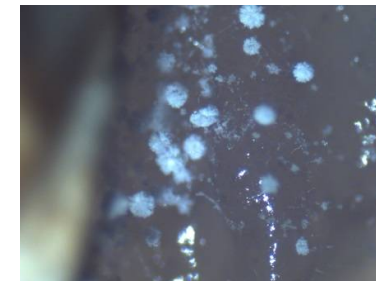
Esta especie se distingue por el color blanco a color crema de sus conidios con diámetros de colonias por lo general menores de 35 mm en todos los medios, y las cabezas conidiales biseriadas con pocas fiálides por métula. Se distingue de las otras especies de *Aspergillus* por sus esporas blancas, de *A. niveus*, por sus vesículas más grandes, métulas que cubren la mayor parte de la vesícula, y que tienen a menudo sólo 2-3 fiálides por métula.

### Características microscópicas.

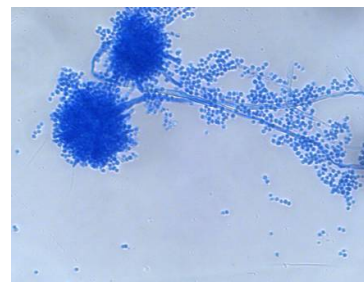
Cabezas conidiales radiadas, **conidióforos** (100) 200-500(750) x 4-10 (12)  $\mu\text{m}$ , paredes lisas a finamente rugosas, incoloras; **vesículas** globosa a un tanto elongada; principalmente **biseriadas**, pero las más pequeñas a menudo **uniseriadas**; las métulas (5) 7-20 x (3) x 5-8  $\mu\text{m}$ , cubren toda la superficie de la vesícula; fiálides de 6-9 (11)x 2-3  $\mu\text{m}$ , a menudo sólo 2-3 fiálides por métula. **Conidios** globosos a ligeramente ovoide, de diámetro (2.5) 3-4 (5)  $\mu\text{m}$ , de pared lisa.

**Colores y texturas de las colonias.** Conidios en **CYA25** de color blanco a amarillo pálido; micelio blanco, denso, forma a veces esclerocios, al principio púrpura rosáceo; convirtiéndose en negro con el tiempo; exudados, cuando están presentes de icoloros a

amarillos; reverso incoloro, amarillo anaranjado o amarillento claro, colonias densas, velutinosas, planas a radialmente sulcadas. Conidios en **MEA**, de color blanco a amarillo pálido; micelio blanco a penas visible, reverso generalmente blanco amarillento a amarillo pálido, ocasionalmente café pálido; colonias bajas, granulares. Colonias de color en **CY20S** similar a las de **CYA25**, la textura de la colonia frecuentemente más granular que en **CYA25**. Color de la colonia en **CYA37** similar a **CYA25**.



*Aspergillus candidus*  
cabezuelas en maíz tratado con  
Quitosán al 1%.



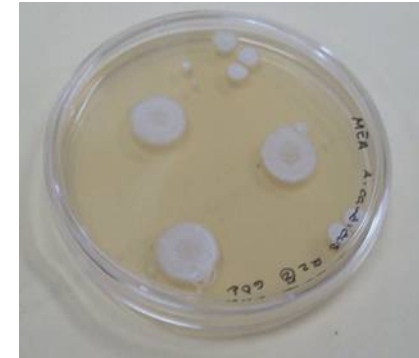
*Aspergillus candidus* 20x.



## Características macromorfológicas de *Aspergillus awamori*



Colonias de *A. candidus* en medio de cultivo CYA 25°C.



Colonias de *A. candidus* en medio de cultivo EMA.



Colonias de *A. candidus* en medio de cultivo CZ.



Colonias de *A. candidus* en medio de cultivo CY20s.

## *Aspergillus penicillioides*

Subgénero: *Aspergillus* Sección: *Restricti*

### Identificación

Diámetros de las Colonias a los 7 días, en mm: **CYA25** 2-8; **MEA** (1) 2-5; **CY20S** 4-12; **CYA37** no crece; **CZ** 3-4.

### Característica distintiva.

Colonias de diámetros pequeños en todos los medios y, en general esporulación pobre se distinguen en esta especie de la mayoría de *Aspergillus*. Se diferencia de *A. restrictus*, una especie similar, mediante la producción de vesículas con fialides que cubren más de la mitad del área vesicular, y mediante la producción de conidios con forma elíptica en lugar de cilindros.

### Características microscópicas.

Cabezas conidiales, usualmente radiadas; **conidióforos** (70) 150-500 (750)  $\mu\text{m}$ , incoloras, paredes

lisas, subglobosas a estipuladas; **vesículas** (7) 9-25  $\mu\text{m}$  de diámetro; **uniseriadas**; fialides (6) 7-10 (11)  $\mu\text{m}$  que cubren más de la mitad de la vesícula.

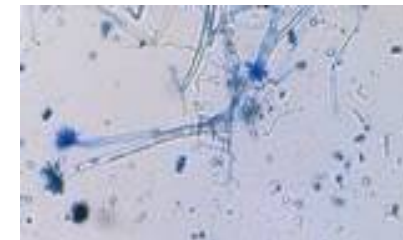
**Conidios** subesféricos a elipsoidales, la pared finamente áspera a rugosa; conidios elipsoidales 3-5.5 (6) x 3-4  $\mu\text{m}$ , esféricos, conidios esféricos 3-5  $\mu\text{m}$ .

### Colores y Texturas de las colonias.

En **CYA25** y **MEA**, esporulación generalmente pobre, de color verde; micelio blanco; reverso incoloro a amarillo pálido o café; colonias densas, velutinosas, planas o sulcadas. Conidios en **CY20S** verde pálido a verde ligeramente azulado; micelio blanco denso, reverso de color verde claro, gris o verde oscuro. En **CZ**, no se observan conidios; micelio blanco, denso o escaso; reversos sin color; colonias bajas, velutinoso.



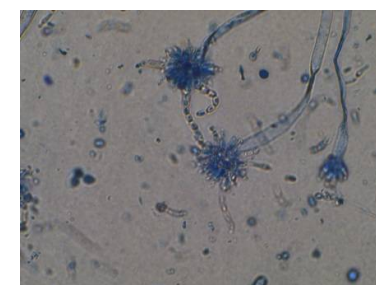
*Aspergillus penicillioides*  
20x.



*Aspergillus penicillioides*  
célula pie 20x.



*Aspergillus penicillioides*  
cabezuela uniseriada 40x.



*Aspergillus penicillioides*  
conidios catenulados  
(cadenas) 20x.

## *Eurotium chevalieri*

Subgénero: *Aspergillus* Sección: *Aspergillus*

### Identificación

Diámetros de las Colonias a los 7 días, en mm: **CYA25** (16) 18-23; **MEA** 16-25; **CY20S** (40) 45-68; **CYA37** 0-10 (11); **CZ** 16-20.

### Característica distintiva.

Diámetro de las colonias en CY20S al menos dos veces más grandes que en CYA25, cleistotecios amarillos, se distingue de otras especies porque presenta las ascosporas lenticulares de paredes lisas con dos crestas longitudinales.

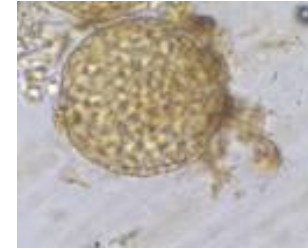
### Características

**microscópicas.** Cabezas conidiales en CY20S generalmente radiadas; **conidióforos** (100) 300-500 (1000) x 7-12 (15)  $\mu\text{m}$ , incoloros a ligeramente café, paredes lisas; **vesículas** piriformes, globosas o clavadas, de diámetros (17) 25-35 (37)  $\mu\text{m}$ ; **uniseriados**; fialides (5) 6-8 (12) x (2) 3-4 (5)  $\mu\text{m}$  que cubren al menos

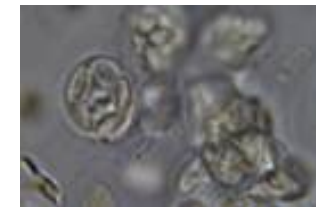
dos tercios de la superficie superior de la vesícula. **Conidios** de diámetro (3) 4-5 (7) x 3-4  $\mu\text{m}$ , variable en forma, subesféricos, ovoide, superficie finamente rugosa a equinulados. **Cleistotecios** de diámetro (60) 90-150 (180)  $\mu\text{m}$ , globosos a suglobosos, amarillos. **Ascosporas** lenticulares, 4.5-5.5 (7) x 3.5-4.0  $\mu\text{m}$ , paredes lisas con dos crestas longitudinales prominentes.

**Colores y texturas de las colonias.** Áreas de los conidios en **CYA25** de color café o verde gris pálido; micelio y cleistotecios amarillos; reverso de amarillo a café; colonias pequeñas, densas, planas o sulcadas. Conidios en **MEA**, de color amarillo oliva, o café; micelio blanco a amarillo y cleistotecios amarillos; reverso amarillo a café (algunas veces de naranja a oliva); colonias pequeñas, velutinosas, granulares,

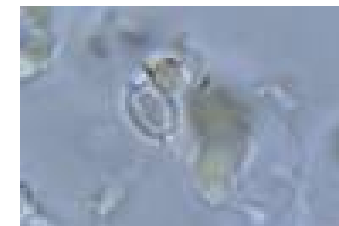
flocuosas o planas. En **CY20S** conidios verde pálido; micelio y cleistotecios amarillos; reverso amarillo, naranja o café; colonias densas, planas o sulcadas y velutinosas. Cuando se produce el crecimiento **CYA37**, los conidios son ausentes, micelio de blanco a amarillo; reverso negro a colores caramelo; pigmentos solubles de color gris a naranja-café, colonias bajas, con las áreas centrales elvada. En **CZ**, conidios de color oliva pálido a oliva café; micelio blanco a amarillo, reverso verde opaco a amarillo; colonias velutinosas a granulares.



Cleistotecio 20x.



Ascas y ascosporas 100x.

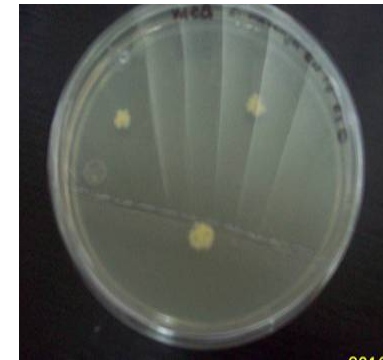


Ascospora 100x.

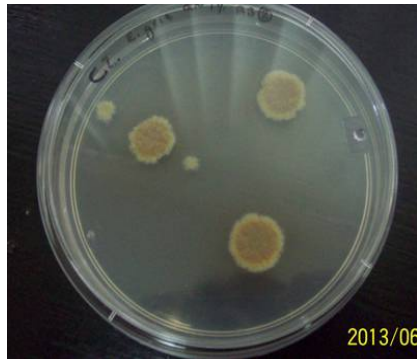
## Características macromorfológicas de *Eurotium chevalieri*



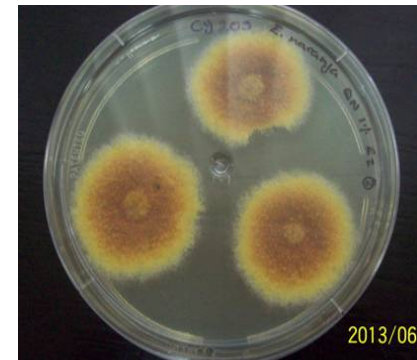
Colonias de *E. chevalieri* en medio de cultivo CYA 25°C.



Colonias de *E. chevalieri* en medio de cultivo EMA.



Colonias de *E. chevalieri* en medio de cultivo CZ.



Colonias de *E. chevalieri* en medio de cultivo CY20s.

## *Eurotium repens*

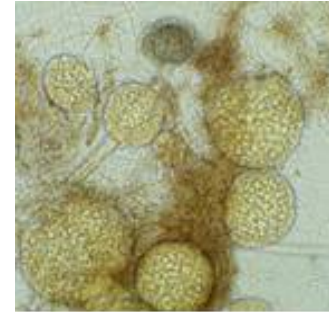
Subgénero: *Aspergillus* Sección: *Aspergillus*

*Eurotium repens* y *Eurotium rubrum* son especies estrechamente relacionadas con *Eurotium herbariorum*. *E. repens* difiere de *E. herbariorum* por la formación de ascosporas.

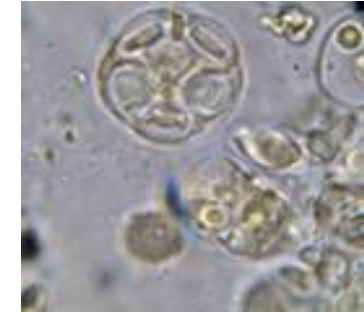
*E. rubrum* tiene ascosporas con un surco más claro, y las hifas tienden a cambiar a ladrillo rojo con la edad. Domsch et al. (1980) consideran que estas tres especies son **congéneres**, en referencia a todos ellos *E. herbariorum*.

Diámetros y características de las Colonias a los 7 días, en CZ 0,7 cm de diámetro, ligeramente de color amarillento; estrecho margen blanquecino, cambiando a flooso, micelio aéreo; presenta numerosos ascomas amarillentos, característicamente adquiere un color verdoso en la

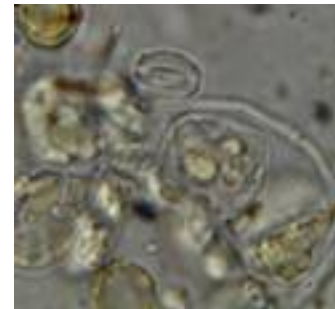
formación de los conidios. Los conidióforos son lisos, incoloros, hasta 250 micras o más largo; forma vesículas uniseriadas globosas 20-30 micras; métulas ausente. Los conidios son de forma ovaladas a subglobosos o globosa, en su mayoría 6-8 micras de diámetro. Ascomas de amarillo a naranja, hifas de color rojo a amarillo, hasta 120 micras de diámetro. Las ascosporas, de paredes lisas, zonas ecuatoriales redondeada o mostrando un rastro de surco, sin crestas.



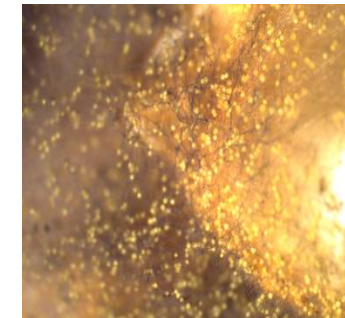
Cabezuela y cleistotecio  
*Eurotium* 10x.



Ascas y ascosporas *Eurotium repens* 100x.



Ascospora *Eurotium repens*  
100x.



Cleistotecios en grano  
*Eurotium repens*.



## *Eurotium rubrum*

Subgénero: *Aspergillus* Sección: *Aspergillus*

*Eurotium repens* y *Eurotium rubrum* son especies estrechamente relacionadas con *Eurotium herbariorum*. *E. repens* difiere de *E. herbariorum* por la formación de ascosporas. *E. rubrum* tiene ascosporas con un surco más claro, y las hifas tienden a cambiar a ladrillo rojo con la edad. Domsch et al. (1980) consideran que estas tres especies son **congéneres**, en referencia a todos ellos *E. herbariorum*.

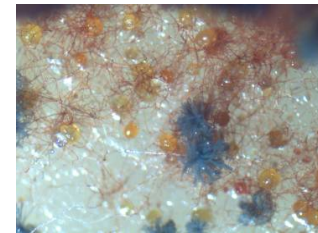
Diámetros y características de las Colonias a los 7 días, sobre CYA 10-20 mm de diámetro, plano, en el fondo, por lo general denso y aterciopelado, a veces flocoso; micelio de color amarillo a naranja brillante; en MEA generalmente 10 -20 mm de diámetro, a veces sólo 5-8 mm, similares a las de CYA,

pero a veces menos profunda y con hifas de color naranja más visible; en CYA a los 37 ° C , no hay crecimiento ; en CY20s de 35-60 mm de diámetro, planas o ligeramente sulcadas, por lo general bajo, denso y velutinoso; micelio visible, en los márgenes de color amarillo, naranja o convirtiéndose en más rojiza, abundantes cleistotecios de color amarillo. Los conidióforos se forman de hifas aéreas, generalmente 300-700 micras de largo, terminando en vesículas subglobosas a piriformes uniseriadas, de 20-35 mm de ancho y fértil en los dos tercios superiores, sólo teniendo células conidiógenas. Fiálides de 7-9 micras de largo. Los conidios de forma subesferoidal a elipsoidal, con menor frecuencia esférica o piriforme, generalmente 6-7

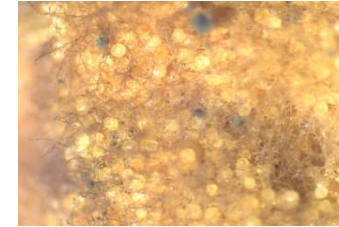
micras de largo, más grande en algunos aislados ocasionales, con paredes equinaladas.



*Eurotium rubrum* 100x



*Eurotium rubrum*.

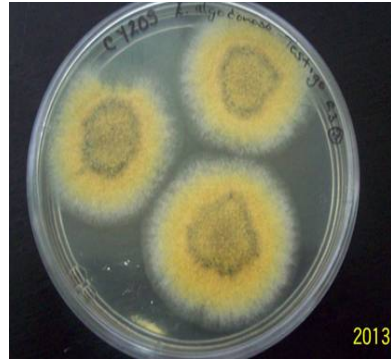


Cleistotecios en grano  
*Eurotium rubrum*.

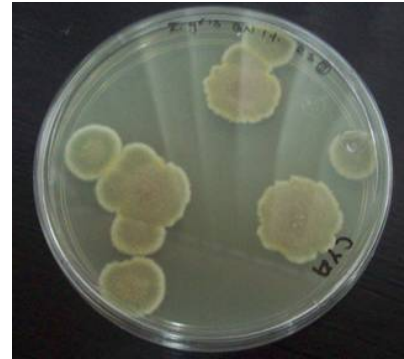
**Características macromorfológicas de  
*Eurotium repens* y *rubrum***



Colonias de *E. repens* en medio de cultivo CYA 25°C.



Colonias de *E. repens* en medio de cultivo CY20s.



Colonias de *E. rubrum* en medio de cultivo CYA 25°C.



Colonias de *E. rubrum* en medio de cultivo EMA.



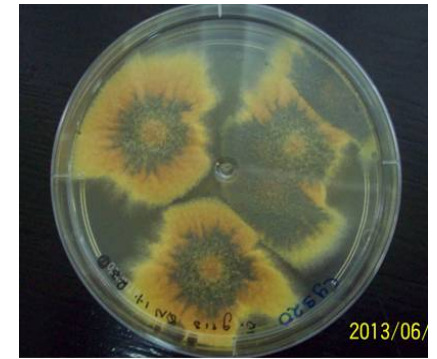
Colonias de *E. repens* en medio de cultivo EMA.



Colonias de *E. rubrum* en medio de cultivo CYA 37°C.



Colonias de *E. rubrum* en medio de cultivo CZ.



Colonias de *E. rubrum* en medio de cultivo CY20s

## *Fusarium dimerum*

### Sección: *Eupionnotes*

**Sinónimos comunes:**  
*Fusarium episphaeria*,  
*Microdochium dimerum*.

**Fase Sexual** no conocida.  
Comúnmente aislado de suelo en diversas regiones geográficas. Importante como patógeno humano.

**Características en Clavel.** Esporodocios ausentes. Los macroconidios se forman en monofialides en conidióforos ramificados. Los macroconidios son pequeños, claramente curvado, con 1 a 2 septos. No forma microconidios. Las clamidosporas son raras.

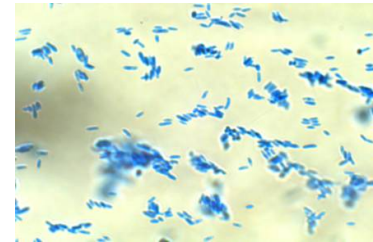
**Características en PDA:** Una de sus características es que es de crecimiento lento, viscoso, forma colonias levaduriformes que son de color blanco a naranja. No hay micelio aéreo

obvio. Poco o nada de pigmentos se excretan en los medios.

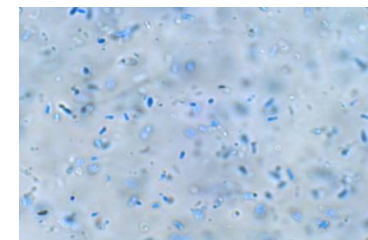
**Macroconidia**  
Esporodocios: No se forman en esporodocios.  
Morfología general: Muy cortos y curvados en ambos lados de la espora. Muy amplia con relación a la longitud y es más ancha en el centro de la macroconidia.  
Morfología celular Apical: redondeada y con frecuencia en forma de gancho.  
Número de septos: Usualmente de 0 a 1 septo. Ocasionalmente 2 septos.  
Abundancia: Por lo general, abundantes en toda la colonia.  
Microconidio. Ausente.

**Clamidosporas**  
Abundancia / velocidad de la formación: Pueden ser raras y difíciles de encontrar. Por lo

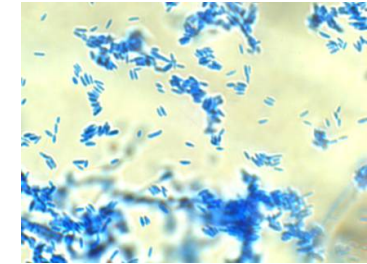
general, presentes después de 6-8 semanas de incubación en Clavel. La ausencia de clamidosporas no es un carácter de diagnóstico.  
Apariencia: se forman de manera individual o en pares.



*Fusarium dimerum* PDA  
20x.

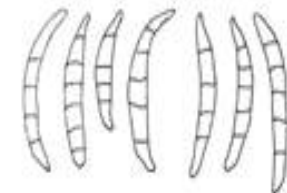


*Fusarium dimerum* en maíz  
PDA 10x.



*Fusarium dimerum* PDA  
20x.

### Clave rápida



*Fusarium*



## *Fusarium oxysporum*

### Sección: *Elegans*

#### Sinónimos comunes:

*Fusarium redolens*.

#### Fase Sexual no conocida.

Es un patógeno causante de la marchitez vascular.

#### Características en Clavel.

Los macroconidios son de color naranja pálido, por lo general abundan los esporodoquios. Los macroconidios son de longitud corta y media, falcados a casi rectos, de paredes delgadas y por lo general 3 septos. Los macroconidios se forman a partir de monofialides o conidióforos ramificados en esporodoquios y en menor medida de monofialides sobre hifas. Por lo general no presenta microconidios, septadas, pueden ser de forma oval, elíptica o reniforme (en forma de riñón), y se forman en abundancia en falsas

cabezas en monofialides cortos. Las clamidosporas se forman abundantemente en hifas en la superficie del agar en la mayoría de los aislamientos.

**Características en PDA.** El micelio puede ser flocoso, escaso o abundante y varían en color desde el blanco hasta el violeta pálido. Abundan las macroconidios de color naranja pálido o violeta pálido, se producen en una masa de esporas central en algunos aislamientos. Los esclerocios son pequeños de color pardo claro, azul, violeta o azul-negro.

#### Macroconidios

Esporodoquios: En la mayoría de los aislamientos producen los macroconidios en abundantes esporodoquios naranja pálido, sin embargo,

en algunos aislamientos los esporodoquios puede ser escasos o no estar.

Morfología general: rectos o curvos, hialinos de paredes delgadas.

Morfología celular apical: presentan un ápice de cónico a curvo, a veces en forma de gancho.

Número de septas: Usualmente con 3 septos.

Abundancia: Escasos en algunas cepas.

#### Microconidios.

Forma / tabicación: oval, elíptica o en forma de riñones y por lo general 0 septas.

Presentación del micelio aéreo: falsas cabezas.

Células conidiógenas: monofialides cortas.

Abundancia: Abundante en el micelios aéreos.

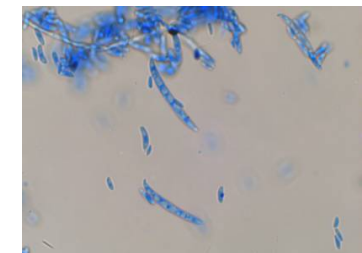
#### Clamidosporas

Abundancia / velocidad de la formación: formadas en abundancia y rápidamente (2-4 semanas Clavel) en la mayoría de los aislamientos.

Apariencia: con paredes lisas a rugosas.



Clamidospora 40x.



Macro y microconidios 40x.

## *Fusarium sambucinum*

### Sección: *Discolor*

**Sinónimos comunes:**  
*Fusarium trichothecioides*, *F. bactridioides*, *F. torulosum* y *F. roseum*.

**Fase Sexual** *Gibberella pulicaris*.

Comúnmente aislado de suelo en diversas regiones geográficas. Se encuentran en una amplia gama de sustratos en diferentes partes y temperatura del mundo.

#### **Características en Clavel.**

Macroconidios abundantes, se forman en esporodoquios de color naranja. Los macroconidios son cortos, delgados, presentan 5 septos, de forma falcada con una célula apical puntiaguda y una célula basal en forma de pie. Muy ocasionalmente forman microconidios, 0 a 1 septo, puede estar presente en algunos aislamientos. Las

clamidosporas se forman en cadenas o racimos.

#### **Características en PDA.**

Crecimiento relativamente rápido, a menudo con una serie de anillos concéntricos aparentes. El micelio aéreo es generalmente abundante, flocoso, aterciopelado y de color blanco a amarillo o gris-naranja. Se puede formar una masa de macroconidias en el centro de la colonia. Generalmente se forman pigmentos en el agar de color amarillo, naranja o rojo rubí, a veces con puntos marrones. Los esclerocios son producidos por algunas cepas y son de color naranja a café.

#### **Macroconidios**

Esporodoquios: Los macroconidios comúnmente se forman en esporodoquios de color naranja, se pueden

observar en medio de cultivo agar clavel.

Morfología general: Son curvos y delgados, relativamente cortos, y por lo general de tamaño uniforme.

Morfología celular Apical: Puntiaguda.

Número de septos: Usualmente de 3 a 5.

Abundancia: usualmente en esporodoquios.

#### **Microconidia.**

Forma / tabicación: Oval y de 0 a 1 septa.

Presentación del micelio aéreo: Ya sea individualmente o en pequeñas falsas cabezas.

Células conidiógenas: En monofiálides.

Abundancia: Muy raro, pero cuando está presente se encuentra en el micelio aéreo.

#### **Clamidosporas**

Abundancia / velocidad de la formación: Presente en

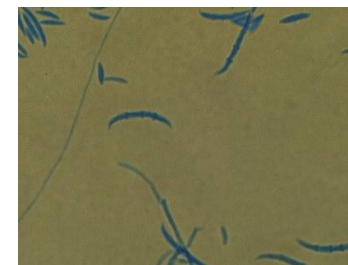
pequeñas cantidades, pueden tomar seis semanas o más para formarse en Clavel. Su ausencia no es un carácter de diagnóstico confiable.

Ubicación: se forman en cadenas y en hifas ya sea en la superficie o sumergido en el agar.

Apariencia: Lisas y por lo general no pigmentada.



*Fusarium sambucinum* 40x.



*Fusarium sambucinum* 40x

## *Fusarium subglutinans*

### Sección: *Liseola*

#### **Sinónimos comunes:**

*Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*, *Fusarium sacchari* var. *subglutinans*; *Gibberella fujikuroi*.

**Fase Sexual** *Gibberella subglutinans*.

**Comúnmente aislado de suelo en diversas regiones geográficas.** Patógeno del maíz. Se encuentra principalmente en las regiones más frías donde se cultiva maíz.

**Características en Agar clavel.** Los macroconidios se forman escasamente. Los microconidios se producen en falsas cabezas en mono y polifialides, son de forma ovalada y con 0 septos. Los más largos presentan de 2 a 3 septos. Las clamidosporas están ausentes.

**Características en PDA.** El crecimiento del micelio es inicialmente abundante y blanco, pero se convierte en violeta mientras que el cultivo envejece. Los esclerocios son de color azul-negro se pueden desarrollar en algunas cepas.

#### **Macroconidia**

**Esporodiquios:** De color naranja, se encuentran en trozos de hojas de clavel en el medio agar de Clavel y ocasionalmente en la superficie del PDA.

**Morfología general:** Relativamente delgados, un poco encorvados y de paredes delgadas. Producidos típicamente por especies del complejo *Gibberella fujikuroi*.

**Morfología celular Apical:** Curvada.

**Morfología celular Basal:** Relativamente poco desarrollada.

**Número de septas:** Usualmente 3 septos.

**Abundancia:** Generalmente rara.

#### **Microconidia.**

**Forma / tabicación:** Oval y no presentan septos.

Se forman en el micelio aéreo, en falsas cadenas en un mucílago.

**Células conidiógenas:** Mono y polifialides. Las polifialides pueden proliferar extensivamente.

**Abundancia:** abundante en los micelios aéreos.

**Clamidosporas.** Ausentes.



Mono y polifialides 40x.



*Fusarium subglutinans* septos 40x.



Falsas cadenas 40x.

## *Fusarium avenaceum*

### Sección: *Roseum*

**Sinónimos comunes:**  
*Fusarium roseum*, *Fusarium avenaceum* ssp. **Fase Sexual**  
*Gibberella avenacea*.

#### Distribución

Se presenta en zonas templadas, pero también se encuentra en partes tropicales.

La colonia en la semilla es generalmente blanca. El micelio es blanco, muy fino, como telaraña con penachos y con un tinte de color durazno. Ausencia de pigmentos azules o violetas. Las masas de esporas son de color naranja brillante casi rojo, formadas en grandes parches sobre el tapiz de micelio, a veces formadas en largas hileras sobre la semilla.

Ausencia de microconidios.

Los macroconidios formados a partir de simples

conidióforos en el micelio aéreo presentan 1-3 septas, y tienen una célula pie. Los macroconidios formados en conidióforos aglomerados son largos, estrechos y curvos más o menos uniformemente a todo lo largo, con extremos aguzados, con 4-7 septas y la masa es de color naranja.

No hay clamidosporas en el micelio, las cuales rara vez están presentes en los conidios.

*F. avenaceum* se identifica rápidamente por sus macroconidios muy largos y muy estrechos, en forma de arco, que generalmente tienen más de tres septas.

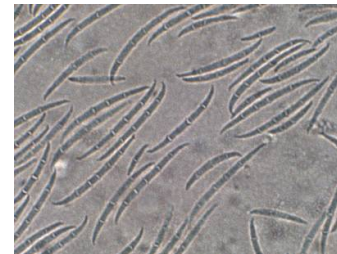
La forma de los macroconidios y la ausencia de clamidosporas en el micelio y los conidios lo

distinguen de *F. equiseti* y *F. culmorum*.

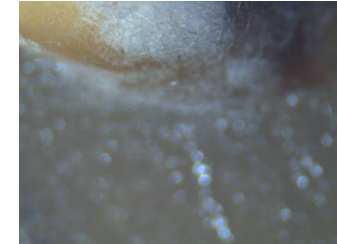
La apariencia de las colonias de *F. avenaceum* es en extremo variable.



*Fusarium avenaceum* clavet  
20x.



*Fusarium avenaceum* clavet  
40x.

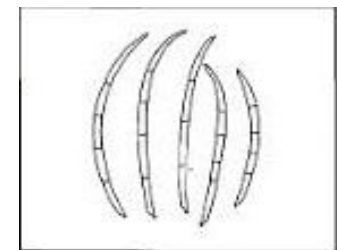


*Fusarium* en el grano



*Fusarium avenaceum* 40x.

#### Clave rápida





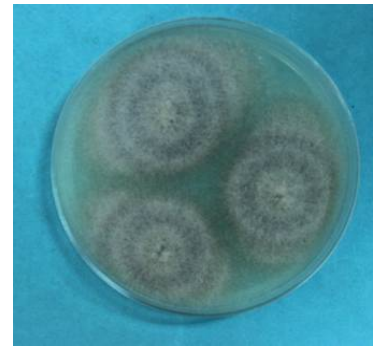
## Características macromorfológicas de *Fusarium*



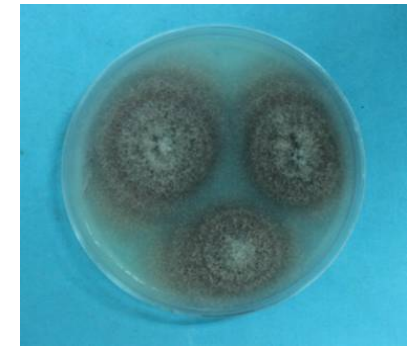
Colonias de *F. dimerum* en medio de cultivo PDA.



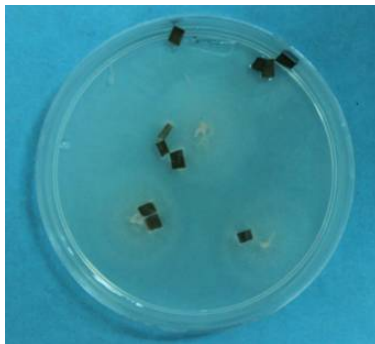
Colonias de *F. oxysporum* en medio de cultivo PDA.



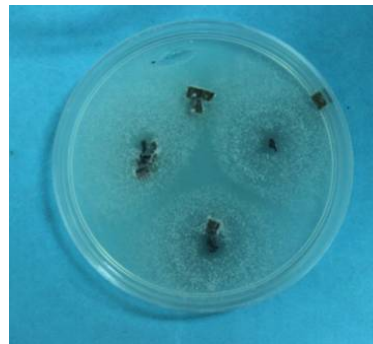
Colonias de *F. sambucinum* en medio de cultivo PDA.



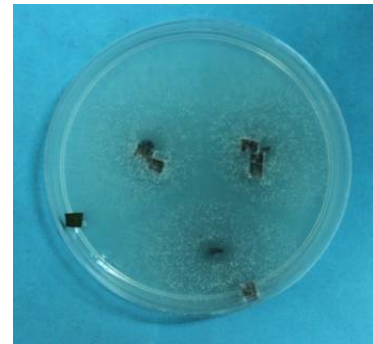
Colonias de *F. subglutinans* en medio de cultivo PDA.



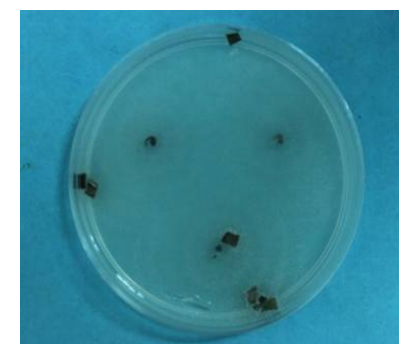
Colonias de *F. dimerum* en medio de cultivo clavel.



Colonias de *F. oxysporum* en medio de cultivo clavel.



Colonias de *F. sambucinum* en medio de cultivo clavel.



Colonias de *F. subglutinans* en medio de cultivo clavel.

## Características macromorfológicas de *Fusarium*



Colonias de *F. avenaceum* en medio de cultivo PDA.



Colonias de *F. avenaceum* en medio de cultivo clavel.

## *Cladosporium sp.*

**Clase:** *Hyphomycetes* **Orden:** *Moniliales*

La colonia en la semilla se propaga suelta o, en ocasiones, como pequeños puntos, a menudo de color verde oliva, pero también algunas veces gris, amarillo claro, café o café negruzco, en grupos algodonosos. Las colonias tienen un crecimiento relativamente lento y producen poco micelio aéreo, pero normalmente tienen una esporulación abundante. La semilla produce poblaciones densas de conidióforos.

Los conidióforos están erguidos, de color café oliváceo pálido a café, ramificados irregularmente en el ápice, ligeramente ahusados hacia a punta. Los conidios se producen en cadenas en las ramificaciones de los conidióforos.

Los conidios son ovalados, cilíndricos y oblongos, con extremos redondeados, hialinos o de color café oliváceo a café, lisos o rugosos, unicelulares o con 1-3 septos. Las cadenas de conidios son muy frágiles y se rompen con facilidad; la fragmentación en la madurez con frecuencia afecta las ramificaciones, dejando sólo regiones desnudas de conidióforos enteros.

*Cladosporium* se caracteriza por presentar conidióforos pigmentados erectos, con cadenas ramificadas de conidios en cabezas dendroides.

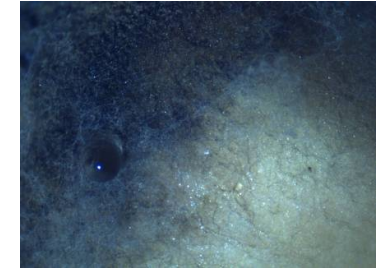
Este género a menudo se puede identificar por sus distintivos conidios en forma de limón,

que tienen cicatrices de unión oscuras y bien marcadas y muestran y considerable variación en cuanto al tamaño y septación según las distintas especies y también en una misma especie.

Las cabezas dendroides de los conidióforos se pueden observar de inmediato usando el método de la cinta adhesiva bajo el microscopio con bajo poder.



*Cladosporium* en el grano de maíz.

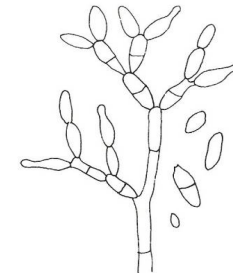


*Cladosporium* en el grano de maíz.



Conidióforos y conidios.

### Clave rápida



*Cladosporium*

## *Papulospora* sp.

### Enfermedad

Ninguna.

### Distribución

En todo el mundo.

### Importancia

**Producción:** Ninguna.  
Saprófito común e invasor secundario.

**Cuarentena:** Ninguna.

La colonia en la semilla está inicialmente constituida por un micelio aéreo blanco, fino, como telaraña y disperso; se vuelve de color café o rojo a causa de la formación de micro- esclerocios en el micelio.

Los micro- esclerocios son grupos compactos irregulares de pequeñas células, formados

por el enroscamiento de las ramificaciones laterales cortas de las hifas, cuyas células proliferan y se agrandan.

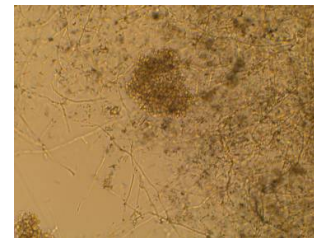
Los micro- esclerocios son de color anaranjado pálido, rojo o café, y sirven para reproducir al hongo.

Algunos micro- esclerocios están constituidos por un núcleo de una o más células oscuras rodeadas por otras más claras, mientras que otros parecen tener un color uniforme. Son casi esféricos u ovalados según la especie.

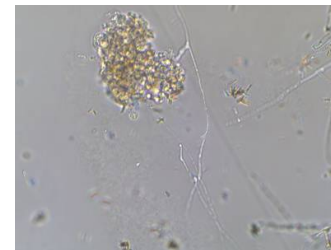
No hay conidióforos o conidios. En este género no se forman verdaderas esporas.

*Papulospora* se distingue por los característicos micro- esclerocios (grupos compactos

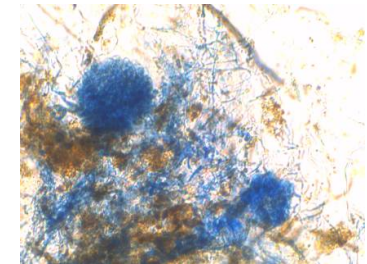
irregulares de células pequeñas) producidas por las hifas vegetativas hialinas.



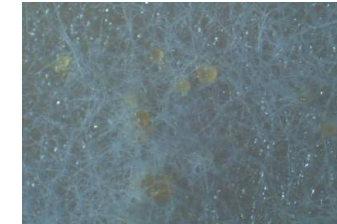
*Papulospora* y artrosporas  
10x.



*Papulospora* y artrosporas  
10x.

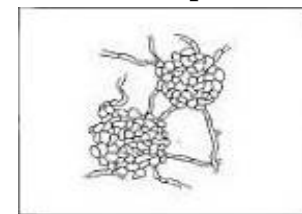


*Papulospora* y pallidula 20x.



*Papulospora* en el grano.

### Clave rápida





## *Paecilomyces sp.*

### ***Paecilomyces farinosus* (Holm ex S.F. Grey) Brown & Smith**

Colonia: en sus inicios y en PDA, la colonia es blanca, pegada al medio, pero luego se pone amarillenta y algodonosa. Revés inicialmente blanco, cambia al amarillo y finalmente se vuelve anaranjado.

Conidióforo: largo hasta 300 $\mu$  de longitud x 1 a 2 $\mu$  de diámetro, septado.

Los conidióforos sostienen a los fiálides.

Fiálides (células conidiógenas): son estructuras en cuyo interior se forman las conidias. Se insertan en el ápice de los conidióforos en grupos de dos a cinco, tienen forma abultada en la base de 5 a 10 $\mu$  y va adelgazando en el ápice de 1 a 1.5 $\mu$ , tienen forma de botella.

Conidias: hialinas, elípticas o en forma de limón. Se presentan en cadenas cortas. Miden de 2 a 4 $\mu$  de longitud x 1.5 a 2.5 $\mu$  de diámetro.

### ***Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith**

Colonia: en PDA inicialmente blanca, luego adquiere un tinte rosado muy tenue. El revés de la colonia es al comienzo ligeramente amarillento, pero a medida que pasa el tiempo se vuelve de color anaranjado intenso.

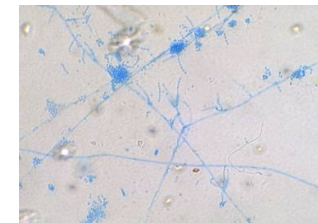
Conidióforos: generalmente terminales pero también se forman en cualquier parte del micelio. Alcanzan hasta 100 $\mu$  de largo x 1.5 a 3 $\mu$  de diámetro.

Fiálides: muy semejantes a los de *P. farinosus*, sólo que están en grupos compactos de tres a seis. También tienen forma de botella con la base ancha que se va adelgazando. Miden de 5

a 7 $\mu$  de largo x 2.5 a 3 $\mu$  de diámetro, que se reduce a 0.5 $\mu$  en el extremo superior.

Conidia: cilíndrica a fusiforme de extremos redondeados, miden de 3 a 5 x

1 a 2 $\mu$ , se observan en cadenas largas.



*Paecilomyces sp.* 40x.



*Paecilomyces sp.* 40x.



*Paecilomyces sp.* cadenas 40x.

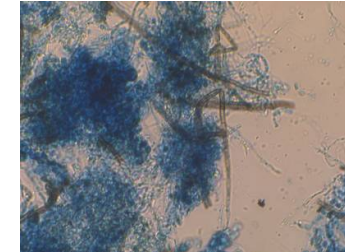
## *Colletotrichum graminicola*

*Colletotrichum* es un género importante de hongos que está conformado por 39 especies que causan atracnosis o tizones en una amplia gama de cultivos agrícolas y planas ornamentales.

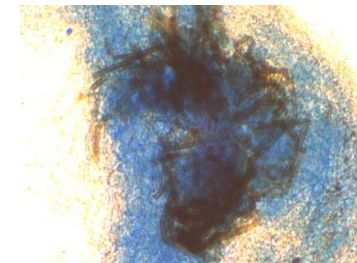
*Colletotrichum* y su teleomorfo *Glomerella* han sido implicados en numerosas enfermedades de las plantas en muchas regiones agrícolas del mundo. Es un hongo anamórfico (imperfecto) que pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, clase Deuteromicetes, subclase Coelomycetidae, orden Melaconiales y familia Melaconiaceae. El género *Colletotrichum* fue establecido por Corda en 1831 para referirse a hongos caracterizados por conidios fusiformes, curvos e hialinos y acérvulos con setas.

### **Síntomas y gama de hospedantes**

En maíz, la atracnosis es una enfermedad de importancia mundial, causada por *C. graminicola* que puede infectar todas las partes de la planta y causar síntomas en cualquier momento del ciclo de vida del cultivo. Las formas más comunes de atracnosis en el maíz son el tizón foliar y pudrición del tallo. El primero, en ataques severos restringe el crecimiento y desarrollo normal de genotipos altamente susceptibles.



Setas *Colletotrichum* 40x.



Setas *Colletotrichum* 40x.

**Características morfológicas de  
*Paecilomyces* y *Colletotrichum***



Colonias de *Paecilomyces* sp. en medio de cultivo PDA.



Colonias de *Colletotrichum graminicola* en medio de cultivo PDA.

