

BIBLIOTECA WILSON POPENOW
ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA
APARTADO 33
TERRUCIALPA HONDURAS

Evaluación de la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maíz (*Zea mays*) en Zamorano

Jorge Alejandro Abastida Ulloa

MICROFIS:	_____
FECHA:	_____
ENCUADRO:	_____

ZAMORANO
Departamento de Agronomía

Abril, 1999

937

Evaluación de la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maíz en Zamorano

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado
Académico de Licenciatura.

Presentado por

Jorge Alejandro Abastida Ulloa

Zamorano, Honduras
Abril, 1999

DEDICATORIA

A Dios todopoderoso por haber sido mi guía en todo momento y permitirme alcanzar una más de mis metas.

A mis padres y hermanos por su invaluable ayuda y apoyo en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

A Dios todopoderoso por estar a mi lado en los momentos en que más lo necesitaba.

A mis padres, Jorge y Georgina por su confianza y todo el apoyo, comprensión y amor que me han brindado en el transcurso de mi vida .

Al Dr. Raúl Espinal por su apoyo y consejos que facilitaron la realización de este estudio y por ser más que un consejero, un amigo.

Al Ing. Francisco Bueso por sus consejos oportunos y por su paciencia.

Al Ing. Rodolfo Pacheco por su amistad y colaboración en el desarrollo del estudio.

A Efraín Banegas por su desinteresada colaboración y por su amistad.

A todo el personal del Departamento de Agronomía, por su colaboración en la realización del estudio.

A mis compañeros y amigos que hicieron de mi estadía en Zamorano una experiencia inolvidable.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

Al Departamento de Agronomía de la Escuela Agrícola Panamericana por contribuir en el financiamiento de mis estudios en Zamorano.

RESUMEN

ABASTIDA, J. 1999. Evaluación de la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maíz en Zamorano. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 44 p.

El objetivo del presente estudio fue el de cuantificar la incidencia de aflatoxinas en las variedades de maíz Guayapa y HB-104, cultivadas en los lotes de producción del Departamento de Agronomía de la Escuela Agrícola Panamericana. El estudio se realizó para determinar la incidencia de aflatoxinas en las variedades y determinar qué factores tenían mayor influencia sobre la concentración encontrada de las mismas. Se realizaron tres muestreos en diferentes etapas (cosecha, secado y almacenamiento) con tres repeticiones cada uno. Las variedades fueron sembradas en seis lotes de producción (tres lotes para cada variedad). Las variables que se evaluaron fueron el contenido de humedad del grano, dureza del grano, densidad aparente, daño mecánico, daño por insectos y daño por hongos. El estudio demostró que no existen diferencias significativas entre las dos variedades de maíz evaluadas en cuanto a la concentración de aflatoxinas. También se determinó que los factores evaluados que más influyeron en la producción de aflatoxinas fueron la humedad, la dureza, daño por insectos y daño por hongos, presentando estos una correlación positiva muy alta con la concentración de aflatoxinas. Se determinó que la selección de las mazorcas luego de la cosecha y el secado del grano a un porcentaje de humedad de 13 % disminuyeron notablemente la incidencia de aflatoxinas presente a cosecha y proporcionan un almacenamiento seguro. Se pudo concluir que el manejo postcosecha del grano (selección, desgrane, secado, almacenamiento, etc.) fue el más influyente en la reducción de aflatoxinas a través de los muestreos.

Palabras clave: *Aspergillus flavus*, aflatoxinas, maíz, manejo postcosecha.

Nota de Prensa

¿PODRÍA USTED ESTAR CONSUMIENDO AFLATOXINAS?

Recientemente se realizó un estudio sobre la incidencia de aflatoxinas en las variedades de maíz Guayape y HB-104 en Zamorano, Honduras. Estas variedades son ampliamente cultivadas en el país por eso la importancia de determinar la incidencia de aflatoxinas en ellas.

Las aflatoxinas son toxinas producidas por hongos que atacan los granos de maíz tanto en el campo como en el almacenamiento. La importancia de este problema radica que los granos contaminados con aflatoxinas muchas veces no muestran síntomas detectables como ser cambio de olor, color y sabor y presentan aflatoxinas.

El estudio se realizó en el periodo de agosto de 1998 a enero del 1999. Se realizaron tres muestreos durante el ensayo para determinar las diferencias entre estas etapas y la incidencia de aflatoxinas en cada una de ellas.

Las aflatoxinas causan problemas al ser humano y a los animales como ser daños al hígado, producción de células cancerígenas y daños al sistema reproductivo. Muchos de estos efectos no se presentan inmediatamente, por esta razón es que no reconocemos muchas veces la causa de la enfermedad.

Los resultados demostraron que no existió ninguna diferencia entre las variedades evaluadas y que los factores que mas influyeron en la incidencia de esta toxina fueron la humedad del grano, dureza, daño por insectos y daño por hongos. También se encontró que el manejo postcosecha del grano juega posiblemente, el papel más importante en la disminución de aflatoxinas en maíz. Este manejo incluye la selección de mazorcas provenientes del campo para eliminar daños provocados por insectos y hongos. Después se procedió a secar el grano a un contenido de humedad de 13% que permite un almacenamiento seguro del grano y evita el desarrollo de hongos durante esta etapa.

Por el peligro oculto que representan estas toxinas, se determinó que es muy importante que se establezca en el país un organismo oficial que regule la contaminación de éste y otros granos alimenticios. En la actualidad este tipo de análisis se están ofreciendo en diversas instituciones como ser Zamorano, Agrobiotek y CESSCO, sin embargo, estos no se realizan de manera oficial.

CONTENIDO

	Portadilla.....	i
	Autoría.....	ii
	Página de firmas.....	iii
	Dedicatoria.....	iv
	Agradecimientos.....	v
	Agradecimiento a patrocinadores.....	vi
	Resumen.....	vii
	Nota de prensa.....	viii
	Contenido.....	ix
	Índice de cuadros.....	xii
	Índice de figuras.....	xiii
	Índice de anexos.....	xiv
I.	INTRODUCCION.....	1
1.1	Generalidades.....	1
1.2	Objetivos.....	2
1.2.1	General.....	2
1.2.2	Específicos.....	2
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1	Definición de micotoxinas.....	3
2.1.1	Hongos micotoxigénicos.....	3
2.1.1.1	Hongos de campo.....	3
2.1.1.2	Hongos de almacén.....	3
2.2	Proceso de contaminación.....	4
2.2.1	Factores que determinan el desarrollo de hongos micotoxigénicos.....	4
2.2.1.1	Contenido de humedad.....	4
2.2.1.2	Temperatura.....	5
2.2.1.3	Daño mecánico.....	5
2.3	Prevención y control de micotoxinas.....	5
2.3.1	Prevención.....	5
2.3.2	Control.....	6
2.4	Aflatoxinas.....	7
2.4.1	Definición.....	7
2.4.2	Historia.....	8
2.4.3	Contaminación.....	8
2.4.4	Propiedades.....	8

2.4.5	Factores que favorecen la producción de aflatoxinas.....	9
2.4.6	Efectos tóxicos en animales.....	9
2.4.7	Efectos tóxicos en humanos.....	10
2.4.8	Métodos de análisis de aflatoxinas.....	11
2.4.8.1	Luz ultravioleta (Presuntivo).....	11
2.4.8.2	Cromatografía de capa fina (TLC) (Cuantitativo).....	11
2.4.8.3	Procedimientos cromatográficos en minicolumna (Semicuantitativo).....	11
2.4.8.4	Ensayo inmunoenzimático (Semicuantitativo).....	12
		12
III	MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
3.1	Localización del estudio.....	13
3.2	Períodos de muestreo.....	13
3.2.1	Muestreo durante cosecha.....	13
3.2.2	Muestreo después de secado.....	14
3.2.3	Muestreo durante el almacenamiento.....	14
3.2.4	Prueba de contaminación.....	15
3.2.4.1	Preparación del medio de cultivo.....	15
3.2.4.2	Transferencia de los granos al medio de cultivo.....	15
3.3	Parámetros evaluados en las muestras.....	15
3.3.1	Humedad.....	15
3.3.2	Daños por insectos y hongos.....	15
3.3.3	Densidad aparente.....	16
3.3.4	Daños al grano después de cosecha.....	16
3.3.5	Dureza.....	16
3.3.6	Nivel de aflatoxinas.....	17
3.3.7	Condiciones climáticas existentes.....	17
3.4	Manejo de las muestras para análisis de aflatoxinas.....	17
3.4.1	Homogeneización de la muestra.....	17
3.4.2	Molienda y extracción.....	17
3.5	Análisis de la muestra.....	18
3.5.1	Procedimiento analítico.....	18
3.6	Materiales y equipo utilizado.....	19
3.7	Análisis estadístico.....	19
IV.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	20
4.1	Contenido de humedad.....	20
4.2	Dureza del grano.....	21
4.3	Densidad aparente.....	23

4.4	Daño mecánico.....	24
4.5	Daño por insectos.....	25
4.6	Daño por hongos.....	27
4.7	Concentración de aflatoxinas (en ppb).....	28
4.8	Condiciones climáticas encontradas en Zamorano durante la realización del ensayo.....	29
V.	CONCLUSIONES.....	32
VI.	RECOMENDACIONES.....	33
VII.	BIBLIOGRAFIA.....	34
VIII.	ANEXOS.....	37

INDICE DE CUADROS

Cuadro

1.	Condiciones favorables de humedad y temperatura para el desarrollo de <i>Aspergillus flavus</i>	9
2.	Área cultivada según variedad de maíz y localidad.....	14
3.	Número de muestras a tomar según número de sacos en la estiba.....	14
4.	Porcentaje de humedad por lote de producción, variedad y etapa de muestreo en estudio realizado para determinar la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maíz en Zamorano, 1998.....	20
5.	Porcentaje de granos flotadores en NaNO ₃ encontrados por lote de producción, variedad y etapa de muestreo en estudio realizado para determinar la incidencia de aflatoxinas en las variedades Guayape y HB-104, 1998.....	22
6.	Densidad aparente (lb/bushel) del grano encontrada por lote de producción, variedad y etapa de muestreo en estudio realizado en Zamorano para determinar la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maíz, 1998.....	23
7.	Porcentaje de daño mecánico encontrado por lote de producción, variedad y etapa de muestreo en estudio realizado en Zamorano para determinar la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maíz en, 1998.....	24
8.	Porcentaje de daño por insectos encontrado por lote de producción, variedad y etapa de muestreo en estudio realizado en Zamorano para determinar la incidencia de aflatoxinas en las variedades Guayape y HB-104, 1998.....	26
9.	Porcentaje de daño hongos encontrado por lote de producción, variedad y etapa de muestreo en estudio realizado para determinar la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maíz en Zamorano, 1998.....	27
10.	Concentración en (ppb) de aflatoxinas encontrada por lote de producción, variedad y etapa de muestreo en estudio realizado para determinar la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maíz en Zamorano, 1998.....	29

INDICE DE FIGURAS

Figura

1.	Curva de regresión para transformar absorvancia a concentración de aflatoxinas.....	18
2.	Precipitación mensual encontrada en Zamorano de agosto 1998 a enero 1999.....	30
3.	Humedad relativa encontrada en Zamorano de agosto 1998 a enero de 1999.....	31

Elaborado por el autor
1999

INDICE DE ANEXOS

Anexo

1.	Datos climatológicos en el valle de Zamorano (1998-1999).....	34
2.	ANDEVA. (Diferencia de medias) del ensayo para determinar la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maiz realizado en Zamorano, 1998.....	43
3.	Análisis de correlación (Pearson) entre concentración de aflatoxinas (ppb) y las variables evaluadas en el ensayo para determinar la incidencia de aflatoxinas realizado en Zamorano, 1998.....	44

I. INTRODUCCIÓN

1.1 GENERALIDADES

En América Latina, los granos constituyen un componente básico en la dieta de la mayoría de sus habitantes. Los granos mayormente cultivados en estos países son: maíz, sorgo, frijol, arroz y soya. Estos granos son la fuente principal de alimento de la población debido a que la mayoría de ésta no tiene acceso a otros productos alimenticios.

En Centro América, la dieta de un alto porcentaje de la población está basada en el consumo principalmente de dos granos básicos: el maíz y el frijol. En el caso de Honduras, el maíz representa la principal fuente de carbohidratos en su dieta. Por esta razón la disponibilidad de este grano en el mercado juega un papel muy importante en la seguridad alimentaria del país.

Según la FAO, durante 1998 en Honduras se cultivaron 390,000 ha de maíz produciéndose en total 619,136 toneladas métricas, lo cual equivale al 82% de la producción total de granos del país. El maíz en Honduras es utilizado principalmente para la alimentación humana, la proporción destinada para alimentación animal es muy baja.

Las condiciones de producción, cosecha y manejo postcosecha hacen al maíz un grano muy propenso a ser infectado por hongos que producen toxinas. Dado el alto consumo de este grano en nuestro país, la población se encuentra amenazada a consumir en alguna medida cierta cantidad de toxinas que pueden afectar su salud. La presencia de estas micotoxinas en los productos alimenticios depende de cepas específicas de hongos que están sujetas a factores ambientales como la humedad y la temperatura (POSTCOSECHA, 1995).

Los hongos que producen micotoxinas se encuentran en todo el mundo; aunque no haya presencia visible de hongos, ni cambios en el sabor, olor y aspecto del grano estos pueden estar contaminados. No todos los hongos producen micotoxinas, ni todos los granos contaminados con hongos son tóxicos.

En la actualidad no existe en Honduras ningún organismo oficial que regule los niveles de contaminación de los granos que se encuentran en el mercado. Sin embargo, en Estados Unidos, la Agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA), ha establecido límites máximos de aflatoxinas en los granos, 20 partes por billón (ppb) para consumo humano y 100 ppb para consumo animal. Se considera que una dosis de 400 ppb es mortal para el hombre (Buesu, 1998).

Actualmente existen diversos métodos para detectar la presencia de micotoxinas en los alimentos, estos pueden ser métodos presuntivos con luz ultravioleta, métodos semicuantitativos como ELISA (complejo antígeno-anticuerpo) y métodos cromatográficos que son los más exactos pero toman más tiempo.

Por el peligro que representan estas toxinas, se estima necesario realizar estudios de la incidencia de aflatoxinas en maíz en Honduras, para promover un mejor manejo postcosecha del grano y despertar el interés de desarrollar leyes fitosanitarias que velen por la seguridad de los consumidores. Por esta razón es que se decidió realizar este tipo de estudio en Zamorano, para determinar la incidencia de aflatoxinas en la zona utilizando las variedades Guayape y HB-104 que son las más utilizadas por los productores de la región. Zamorano es un productor importante de semilla de estas dos variedades.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 General

Cuantificar la incidencia de aflatoxinas en las variedades de maíz Guayape y HB-104 cultivadas en los lotes de producción de semilla y grano en Zamorano.

1.2.2 Específicos

1. Evaluar la influencia de los factores ambientales y de manejo del cultivo en el campo después de madurez fisiológica que influyeron en la incidencia de aflatoxinas.
2. Documentar los factores de manejo postcosecha de grano a partir del recibo del producto en la planta de procesamiento de semillas de Zamorano.
3. Determinar a partir de la cosecha los niveles de aflatoxinas de las variedades de maíz Guayape y HB-104 a través de un método semicuantitativo (Veratox).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Definición de micotoxinas

El término micotoxina se deriva de las palabras griegas "mykes" que significa hongos y "toksikón" que significa veneno (FAO, 1991).

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos, que al ser consumidos por humanos o animales pueden causar un efecto tóxico. Estas toxinas pueden acumularse en cultivos como maíz, cereales, soya y maní mientras permanecen en el campo y aún durante su transporte y almacenamiento. Las enfermedades resultantes del consumo de micotoxinas se conocen como micotoxicosis (Gazaway, 1993).

2.1.1 Hongos micotoxigénicos

Los hongos micotoxigénicos pueden ser clasificados en dos categorías: hongos de campo y hongos de almacén (Chelkowski, 1991).

2.1.1.1 Hongos de campo. Los hongos de campo son los que están adaptados a condiciones cambiantes de temperatura y de humedad. Entre los géneros principales se encuentran *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Helminthosporium* y *Cladosporium*. *Aspergillus* es normalmente considerado como hongo de almacén, pero algunas especies como *A. flavus* pueden desarrollarse en el campo. El contenido de humedad del grano debe ser superior a 18 % en equilibrio con una humedad relativa mínima de 80% y las temperaturas deben oscilar entre los 25 y 35°C, para que estos hongos se desarrollen óptimamente (Chelkowski, 1991).

La penetración de los hongos de campo se ve limitada básicamente al pericarpio, donde se desarrollan en respuesta a condiciones altas de humedad durante la maduración del grano (Watson, 1987).

2.1.1.2 Hongos de almacén. Los hongos de almacén se adaptan mejor a condiciones constantes de humedad y temperatura, condiciones encontradas comúnmente en estructuras de almacenamiento. Los principales géneros que conforman esta categoría son *Penicillium* y *Aspergillus*. Las temperaturas a las que se desarrollan estos hongos son diversas debido a que estas especies son muy variables en sus requerimientos (Chelkowski, 1991).

La invasión fungal del grano incluye el desarrollo de micelios en el tejido del grano. Estos hongos obtienen nutrientes del grano a partir de la liberación de enzimas que digieren sustancias del grano (Watson, 1987).

2.2 Proceso de contaminación

La contaminación con micotoxinas de los granos es generalmente un proceso aditivo. La contaminación, resultado del crecimiento de hongos filamentosos puede comenzar en el campo, incrementando durante su cosecha y operaciones de secado, y continuar acumulándose durante el almacenamiento (Sauer, 1992).

Dentro de cada especie de hongos productores de micotoxinas existen cepas que no las producen, por lo tanto la presencia del hongo en un alimento no implica necesariamente la presencia de micotoxinas. Por otro lado, un mismo hongo puede producir diferentes tipos de micotoxinas simultáneamente (Rodricks, 1976).

A pesar de que no haya presencia visible de mohos en el grano ni cambios en el color, aspecto y sabor puede haber contaminación con micotoxinas (FAO, 1982).

2.2.1 Factores que determinan el desarrollo de hongos micotoxigénicos

Los principales factores que determinan el desarrollo de hongos en los granos son: el contenido de humedad del grano, la temperatura, tipo y tiempo de almacenamiento, el manejo del grano y la actividad de insectos y otras plagas. De estos, los más importantes son la humedad y la temperatura.

2.2.1.1 Contenido de humedad. El contenido de humedad del grano puede ser medido por diversos métodos, pero estos métodos no siempre nos indican la cantidad de humedad disponible para los microorganismos (Chelkowski, 1991). La actividad del agua (a_w) es una mejor medida del agua disponible para los microorganismos. A medida disminuye el contenido de humedad esta se vuelve más ligada y menos disponible para los microorganismos (Sauer, 1992).

Cada hongo toxigénico tiene requerimientos específicos en cuanto a humedad en el ambiente y en el grano. Las condiciones óptimas para el desarrollo de hongos de almacén se presentan cuando el contenido de humedad de la mayoría de los granos es de 15-20 % en equilibrio con una humedad relativa de 75-80 % (Ramírez, 1980).

En el campo la contaminación se lleva a cabo después de que el grano alcanza su madurez fisiológica, ya que es cuando el contenido de humedad comienza a reducirse y por lo tanto facilita el desarrollo de los hongos.

2.2.1.2 Temperatura. El grano recién cosechado puede estar contaminado tanto con hongos de campo como del almacén. Cuál de ellos se desarrollará está determinado por las condiciones de temperatura y humedad existentes. Los hongos difieren mucho en cuanto al rango de temperatura que les permite desarrollarse. Algunos hongos como *Cladosporium* y *Penicillium* pueden crecer aún a temperaturas bajo cero. Sin embargo, la mayoría de los hongos que atacan los granos incluyendo *Penicillium* y *Aspergillus* spp. se desarrollan entre los 10 y 40°C, con un óptimo entre 25 y 35°C (temperaturas típicas encontradas en Honduras) y por esta razón se clasifican como mesófilos. Hongos termofílicos como *Thermomyces* spp. y *Talaromyces thermophilus* pueden desarrollarse a temperaturas de 60°C (Chelkowski, 1991).

Alrededor de los 10°C, el crecimiento de la mayoría de los hongos es muy lento; sin embargo, bajo condiciones adecuadas de humedad algunos hongos pueden producir toxinas, ya que la respiración de los microorganismos puede elevar un poco la temperatura (Sauer, 1992).

La temperatura tiene una influencia considerable en los requerimientos de humedad, porque los requerimientos mínimos para el desarrollo son diferentes a diferentes temperaturas. La actividad del agua (a_w) puede ser baja a temperatura óptima, puede ser alta a mínima y máxima temperatura de desarrollo (Miller, 1994). Los granos almacenados a 13 % de humedad y a una temperatura de 20-25°C pueden permanecer varios años sin problema de ser dañados (Ramírez, 1978).

2.2.1.3 Daño mecánico. El daño causado al pericarpio puede ser superficial, de modo que penetre únicamente las capas superiores del mismo. Las lesiones que penetran la capa aleurona son más problemáticas ya que exponen el tejido del germen y el endospermo. Estas lesiones facilitan el desarrollo principalmente de hongos de almacén (Chelkowski, 1991).

Los daños que se presentan cerca o alrededor del germen son algunas veces más severos que los del endospermo. La cosecha mecanizada aumenta considerablemente el daño ocasionado al grano (Watson, 1997).

Este daño también puede darse durante el procesamiento del grano, razón por la cual se debe calibrar regularmente el equipo para reducir al mínimo los daños ocasionados al grano.

2.3 Prevención y control de micotoxinas

2.3.1 Prevención

La mejor forma de controlar la presencia de micotoxinas en los granos y concentrados para alimentación animal es prevenir que se formen, ya sea en el campo o durante el almacenamiento.

Según Campos (1987), las medidas preventivas son las más eficaces para disminuir la contaminación de los alimentos con micotoxinas. Los resultados de estas medidas no se notan inmediatamente, pero son evidentes a largo plazo.

Las esporas de los hongos por estar en todas partes, al presentarse las condiciones adecuadas para su desarrollo invaden el sustrato. Por esta razón es que las medidas preventivas están orientadas a evitar que estas condiciones favorables se presenten.

Según Jacobsen (1993) algunas medidas preventivas son:

- Destrucción de residuos de campo: Esto se hace para reducir el inóculo inicial de hongos micotoxigénicos en el campo.
- Protección contra insectos y pájaros: Los insectos y pájaros causan daño a la mazorca y facilitan el establecimiento del hongo en el grano.
- Reducir el daño mecánico: Se debe ajustar bien el equipo de cosecha (donde no sea manual) para reducir al máximo el daño que este le causa al grano. Las rajaduras o fisuras son fuente de entrada para los hongos y ocasionan pérdidas enormes. También se debe evitar secar el grano a altas temperaturas por un corto tiempo porque promueve la formación de rajaduras en el grano.
- Cosecha en condiciones ambientales favorables: Para lograr esto se puede adelantar o retrasar la época de siembra para lograr que el grano sea cosechado en la época seca.
- Secar el grano rápidamente: Por lo menos a un 13.5% de humedad (límite mínimo para el desarrollo de hongos, lo ideal es 13%) lo más rápido posible y no excederse más de 48 horas después de cosechado.
- Almacenar en estructuras adecuadas: Que impidan la entrada de agua, insectos y roedores. Que sea hermético para poder hacer uso de plaguicidas.

2.3.2 Control

Según Jacobsen (1993) entre las medidas de control que existen actualmente encontramos las siguientes:

- Irradiación con rayos gamma: Recientes experimentos han obtenido eliminación total de aflatoxinas en granos, pero requieren dosis elevadas para conseguirlo. El problema radica en que si se utiliza una dosis inferior a la necesaria mas bien se promueve la producción de la toxina.
- Detoxificación con amoníaco: Se ha utilizado para la alimentación de ganado no lechero ya que estas digieren el amoníaco como si fuera urea.

- Arcillas sequestrantes: Estas tienen la capacidad de absorber la toxina de los granos y ser eliminada al lavar el grano.
- Tratamientos con alta temperatura y alta presión: Con este método se reduce el contenido de aflatoxinas a concentraciones menores a 20 ppb en menos de 30 minutos. Su desventaja consiste en que no funciona para todas las toxinas.
- Mezcla de granos: Esta práctica consiste en mezclar grano infectado con grano bueno para reducir la concentración de aflatoxinas a niveles inferiores a 20 ppb. Esta práctica es permitida únicamente para grano utilizado en alimentación animal.
- Selección de granos: Consiste en eliminar los granos vanos y dañados por ser estos más propensos a desarrollar mayores concentraciones de toxinas.

2.4 Aflatoxinas

2.4.1 Definición

Las aflatoxinas son metabolitos secundarios del grupo bis-furano-isocumarina producidas por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. Su nombre se deriva de la abreviación taxonómica de *Aspergillus* (A) y especie *flavus* (fla) (Christensen, 1980).

Las aflatoxinas son las más comunes y estudiadas de todas las micotoxinas. Se consideran de importancia primaria por ser frecuente su aparición en cultivos como el maíz, que son la base de alimentación para los seres humanos sobre todo en países en desarrollo así como su uso como ingrediente principal de la alimentación animal (Mirocha, 1980).

Los componentes derivados de aflatoxinas asociados con *A. flavus* y *A. parasiticus* son denominados B1, B2, G1 y G2. Esta denominación se debe a la fluorescencia que presentan al ser expuestas a luz ultravioleta (U.V.) a 365nm. Las aflatoxinas B1 y B2 presentan una fluorescencia azul ("Blue") mientras que las aflatoxinas G1 y G2 presentan una fluorescencia color verde ("Green"). Existe una variante de estas que se denomina M1 y M2 que no son más que metabolitos animales de la aflatoxina B1 y B2. Esta corresponde a las aflatoxinas encontradas en la leche de vacas que han sido alimentadas con grano contaminado. La tasa de conversión de B1 a M1 es de aproximadamente 1% (Bueso, 1998 ; Cast, 1989).

2.4.2 Historia

Las aflatoxinas fueron descubiertas en Inglaterra en 1960 cuando 100,000 pavos jóvenes y 14,000 patos murieron al ser alimentados con torta de maíz contaminada con aflatoxinas que fue importada de Brasil. Hasta ese momento esta toxina era completamente desconocida por lo que se le denominó en ese entonces "Enfermedad X" de los pavos (Rodricks, 1978 ; Richard y Thurston, 1986).

En 1966 fue reconocida en Estados Unidos en 30,000 bushels de maíz que había sido almacenado por un periodo largo de tiempo. Desde ese entonces se ha encontrado en diversa variedad de alimentos por todo el mundo (Hesseltine y Mehlman, 1978).

2.4.3 Contaminación

La contaminación por aflatoxinas puede producirse durante el cultivo, la cosecha, el transporte o el almacenamiento. El *A. flavus* es considerado principalmente un hongo de almacén, pero bajo condiciones adecuadas de humedad y temperatura puede infectar el grano aun cuando este se encuentre en el campo (FAO, 1982).

En el campo, *Aspergillus flavus* produce conidias amarillo-verdosas que funcionan como dispersoras y como inóculo infeccioso, así como estructuras más duraderas llamadas esclerocios que son dispersados al suelo con la cosecha mecánica (Wicklow, 1991).

Aspergillus puede ser encontrado en el aire, en el suelo y en los residuos del cultivo anterior (Baird, 1995). El modelo de contaminación con *Aspergillus* más aceptado comprende tres pasos principales:

- a) Contaminación con inóculo aéreo o transmitido por insectos vectores.
- b) Mazorca o granos dañados por insectos o pájaros se contaminan al tener una vía de entrada al grano.
- c) Factores culturales que causan estrés a la planta, así como altas temperaturas que incrementan la susceptibilidad a la infección fúngica (Anderson, 1975).

La sobrevivencia del esclerocio fúngico está asociado con su abundante reserva nutricional y su habilidad para resistir estrés en el ambiente y resistencia al ataque microbiano (Lumsden, 1981).

En almacenamiento. Para que el hongo infecte el grano es necesario que el grano y/o el ambiente presenten condiciones favorables para el hongo como ser la humedad del grano, la humedad relativa y la temperatura. La temperatura puede ser variable pero debe existir humedad (Nyvall, 1976).

2.4.4 Propiedades

Las aflatoxinas presentan fluorescencia dependiendo de la toxina involucrada (B1, G1, etc.). Esto nos permite realizar análisis preliminares de bajo costo como ser la prueba de

luz ultravioleta. Estas toxinas son ligeramente solubles en agua (10 a 20 mg/ml), son insolubles en solventes no polares, solubles en solventes moderadamente polares como el cloroformo y el metanol (Mirocha, 1980). Las aflatoxinas son inestables en presencia de bases. Los tratamientos con calor o cocciones pueden reducir los niveles de toxina en los alimentos pero no la eliminan (Lillehoj y Wall, 1987).

2.4.5 Factores que favorecen la producción de aflatoxinas

Existen ciertas condiciones que determinan la severidad de la contaminación del maíz con aflatoxinas. Todas afectan directamente el crecimiento de *A. flavus* que después produce aflatoxinas. Entre estos factores se incluyen: El contenido de humedad del grano, la temperatura, daños físicos, periodo de almacenamiento y daño por insecto.

Según Nyvall (1976), un contenido de humedad inferior al 13% previene la invasión por *A. flavus* sin importar el tiempo que se almacene. Si el contenido de humedad del grano aumenta sobre este nivel, la incidencia y severidad de la invasión incrementa con la temperatura y con el tiempo. *A. flavus* puede desarrollarse a bajos contenidos de humedad

A medida se desarrolla el hongo ocurre respiración y la humedad y el calor son liberados al ambiente que lo rodea provocando los llamados "focos de calor". *A. flavus* se desarrolla mejor a altas temperaturas. Las temperaturas bajas reducen su desarrollo pero no lo detienen por completo. La temperatura mínima para la producción de aflatoxinas es de aproximadamente 12°C, la óptima 27°C y la máxima de 40°C (Mirocha, 1980). Se debe notar que las condiciones ambientales óptimas para el desarrollo del hongo son muy similares a las condiciones necesarias para la producción de aflatoxinas pero no iguales.

Cuadro 1. Condiciones favorables de humedad y temperatura para el desarrollo de *Aspergillus flavus*.

Factor	Rango	Óptimo
Temperatura	25-40°C	30°C
Humedad relativa	62-99%	85%
Humedad del grano	14-20%	18%

Fuente: Jacobsen, (1993).

El tiempo de almacenamiento también juega un papel muy importante en el proceso de contaminación del grano. El maíz que va ser almacenado por un corto tiempo antes de ser procesado puede ser almacenado con un contenido de humedad superior al 13% y a una temperatura mayor que los lotes que permanecerán almacenados por varios meses o años.

2.4.6 Efectos tóxicos en animales

Las aflatoxinas producen un amplio número de efectos dañinos en animales. El impacto económico de la reducción de la productividad, incremento de la incidencia de enfermedades debido a la inmunosupresión, daños a órganos vitales e interferencias con la capacidad reproductiva es incluso mayor en algunos casos que la muerte debida a envenenamiento (Jones, 1993).

Según Jacobsen (1993), todas las especies animales son susceptibles de alguna manera a daños causados por aflatoxinas, aunque varía sensiblemente de una especie a otra. Por ejemplo las aves, peces, cerdos y ganado lechero aparentan ser más susceptibles que el ganado vacuno para carne.

En aves provoca problemas a los riñones y al hígado, problema de patas y huevos, así como mayor susceptibilidad a coccidiosis. También puede llegar a suprimir por completo el sistema inmunológico natural contra infecciones (Hesseltine, 1977). Las ponedoras generalmente toleran niveles más altos de aflatoxinas que las aves más jóvenes pero estos niveles siempre deben ser inferiores a 50 ppb.

Se debe tener especial cuidado con grano contaminado para alimentación de ponedoras ya que los huevos se utilizan para alimentación humana y se puede transmitir a través de la cadena alimenticia (Baird, 1995).

Como regla general, aves en crecimiento no se deben alimentar con dietas que contengan más de 20 ppb. Sin embargo, alimentar éstas con niveles inferiores a 20 ppb puede todavía reducir su resistencia a enfermedades (Baird, 1995).

En cerdos, las micotoxinas provocan reducciones en el consumo de alimento, pobre crecimiento y problemas en el sistema inmunológico. La aflatoxina B1 ha sido la más estudiada ya que de 20 a 200 ppb provoca una reducción en el consumo de alimento y por ende en el crecimiento. Esto puede ser aliviado adicionando nutrientes específicos a la dieta como ser lisina y metionina. En casos severos de intoxicación aguda (1000-5000 ppb) se pueden esperar consecuencias más graves que pueden causar incluso la muerte de los animales (Jones, 1993).

En el ganado, el alimento contaminado con aflatoxinas no solo reduce el rendimiento animal sino también su salud y crea un riesgo de transmitir residuos de la toxina a la leche. La tasa de conversión de aflatoxina B1 a M1 es de aproximadamente 1% (Bueso, 1998).

Según Jones (1993), No se debe alimentar ganado lechero con dietas que contengan más de 25 ppb. Este es un nivel conservador debido a que:

- a) Hay distribución desuniforme de la toxina en la masa de grano y en la dieta.
- b) Existe incertidumbre en el método de análisis.
- c) Puede existir más de un ingrediente que aporte la toxina.

2.4.7 Efectos tóxicos en humanos

La aflatoxina B1 (la más abundante de los derivados) es un carcinógeno, teratogénico y mutagénico, que por sus propiedades es considerado de principal importancia en la salud humana como animal (Mirocha, 1980).

En África, India y Asia, el daño severo al hígado es común entre sus pobladores y se sospecha que es causado por alimentos contaminados con hongos micotoxigénicos (Christensen, 1976).

Los manipuladores del grano en las plantas de procesamiento deben usar mascarillas para protegerse del polvo de los granos ya que se ha demostrado que este puede contener niveles altos de aflatoxinas y que puede ser fatal si se ingiere o se inhala. Las personas expuestas a grandes cantidades de polvo padecen de micotoxicosis pulmonar producida por la inhalación de hifas y esporas (Jacobsen, 1993).

En México y Guatemala se ha demostrado que en la producción de tortillas por procesos alcalinos (nixtamalización), se reduce inicialmente los niveles de aflatoxinas pero al entrar en contacto con el medio ácido del estómago, mucha de esta toxina se regenera (Campos, 1987).

2.4.8 Métodos de análisis de aflatoxinas

Los métodos de análisis de aflatoxinas en los alimentos puede dividirse en tres grupos principales: a) Presuntivos, b) Semicuantitativos, c) Cuantitativos (Fiesen 1987; Watson, 1987). Actualmente se cuenta con diversos métodos para el análisis de aflatoxinas, se mencionarán a continuación los más utilizados.

2.4.8.1 Luz ultravioleta (Presuntivo). Esta es una prueba presuntiva para la detección de aflatoxinas de muy bajo costo pero poco recomendada. Este método se basa en la inspección visual para detectar si el grano presenta una fluorescencia amarillo-verdosa. Esta puede observarse colocando la muestra bajo una luz ultravioleta de 365 nanómetros (nm) de longitud de onda. La fluorescencia del grano indica la posible presencia de *Aspergillus flavus* pero no significa que contenga la toxina (Nyvall, 1976).

La fluorescencia es resultado de las propiedades del ácido kójico que es otro compuesto producido por *A. flavus*, y que no está relacionado directamente con las aflatoxinas. Las muestras que resulten positivas pueden contener cierta cantidad de toxina por lo que deben ser analizadas con métodos más precisos que nos indiquen su concentración (Tarr, 1996).

2.4.8.2 Cromatografía de capa fina (TLC) (Cuantitativo). La técnica es sencilla y relativamente barata; consiste en separar las toxinas en placas revestidas con gel de sílice mediante un frente de solvente migrante. La cuantificación se puede realizar mediante la comparación visual o densiométrica de la intensidad de los puntos fluorescentes de las

sustancias desconocidas con una serie de modelos de referencia de concentración conocida dispersos en la misma placa (Fieser, 1987).

Esta técnica es un procedimiento de separación seguro, factible y relativamente sencillo que cuenta con muchas aplicaciones. Su aplicación bidimensional ofrece una resolución especialmente buena, que permite obtener bajos límites de la detección (FAO, 1991). Este método nos determina de una manera más precisa la concentración de aflatoxinas en maíz y es utilizada en muchos laboratorios de análisis (Tarr, 1996).

2.4.8.3 Procedimientos cromatográficos en minicolumna (Semicuantitativo). Estos procedimientos requieren de poco tiempo y de un equipo nada complicado. Esto los hace más útiles para ensayos de separación en el campo para técnicos en países en desarrollo. Este método es semicuantitativo y por lo general tiene un límite de detección más elevado, menos sensibilidad y facultad de separación que los métodos cromatográficos de capa fina (FAO, 1991).

Es utilizado con frecuencia para determinar si el maíz excede los límites establecidos por el FDA (20 ppb). Si la muestra es lo suficientemente representativa de un lote de grano, es un método aceptado para rechazar o aceptar el lote (Tarr, 1996).

El método es capaz de detectar concentraciones superiores a 10 ppb una muestra de maíz. Puede ser analizada con este método en 20-60 minutos (Nyvall, 1976).

2.4.8.4 Ensayo inmunoenzimático (Semicuantitativo). En la actualidad, la mayoría de los ensayos inmunoenzimáticos para la detección de micotoxinas son del tipo de ensayo inmunoabsorbente por acoplamiento enzimático (ELISA). Esta es una técnica que puede ser utilizadas en todas partes (FAO, 1991).

La formación del complejo antígeno-anticuerpo puede medirse indirectamente utilizando el antígeno marcado con enzimas de competencias. La cantidad de enzima es una medida de la cantidad del complejo antígeno-anticuerpo. Este método utiliza una mezcla de metanol y agua para realizar las extracciones de las mucuras de grano molido. Los extractos finales que se utilizan para los ensayos son soluciones acuosas. Los límites de detección de los procedimientos son lo suficientemente bajos como para hacer determinaciones de los niveles de tolerancia (FAO, 1991).

Estos ensayos inmunquímicos selectivamente "atraen" el compuesto de interés, permitiendo la eliminación de impurezas o sustancias que interfieran por medio de lavados y son menos sensibles a las impurezas presentes en la muestra. Además, proporciona una solución a problemas relacionados con el análisis de micotoxinas que son especificidad, sensibilidad y simplicidad (Wilson, 1992).

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LOCALIZACIÓN DEL ESTUDIO

El estudio se realizó en los lotes de producción de Sta. Inés, Zavala, San Nicolás y Monte Redondo del Departamento de Agronomía de la Escuela Agrícola Panamericana, ubicada en el valle de El Zamorano a 29 km al este de Tegucigalpa, departamento de Francisco Morazán, Honduras, 14° latitud norte y 82° y 2 minutos longitud oeste. Las condiciones climáticas que predominan en la zona son temperaturas medias anuales que fluctúan entre 23 y 24°C y una precipitación media anual de 1100mm con una altitud aproximada de 800 msnm.

3.2 PERIODOS DE MUESTREO

Se realizaron tres muestreos: a la cosecha (aprox. 60 días después de la anthesis), otro realizado luego de la selección y secado (15 días después de la cosecha) y el último al inicio del almacenamiento del grano (después de realizar el desgrane, secado, selección y procesamiento, aproximadamente un mes después de secado). Se seleccionaron estos periodos de muestreo para comparar las concentraciones de aflatoxinas encontradas en el grano por considerarse que tanto la selección como el manejo postcosecha que se le da al grano tienen repercusiones en la concentración final de aflatoxinas en dichos granos. Además para determinar si existen diferencias significativas en cuanto a susceptibilidad a infectarse y acumular toxinas entre las dos variedades evaluadas (Guayape y HB-104).

3.2.1 Muestreo durante cosecha

Este muestreo consistió básicamente en la recolección al azar de mazorcas de cada una de las variedades en los diferentes lotes de producción, utilizando un patrón de muestreo en zig zag recolectando aproximadamente de 15 a 30 sub-muestras por lote (cuadro 2), para determinar el estado inicial del grano en el campo. La muestra final de este muestreo contenía de 5-10 lbs por lote dependiendo del área del mismo.

Cuadro 2 Área cultivada según variedad de maíz y localidad

Variedad	Localización	Área (ha)
Guayape	Sta. Inés, Terraza 2,3	9.3
Guayape	Zavala, Lotes 4,5	6.4
Guayape	Sn. Nicolás, Terraza 5	8.2
HB-104	Monte Redondo Vegas 2,3,5,6	6

Fuente: Departamento de Agronomía.

3.2.2 Muestreo después del secado

Una vez que se recibieron las mazorcas provenientes del campo se procedió a seleccionarlas en las planchas destinadas para este uso. La selección consistió en separar las mazorcas que presentaban daños severos por hongos e insectos. Una vez realizada esta selección se procedió al desgrane y secado del grano. Las muestras fueron extraídas de las tolvas de almacenamiento temporal antes de ser llevadas a la planta para su posterior procesamiento. Se utilizó un muestreador de alveolo para la extracción de las muestras (compuestas de cinco sub-muestras por tolva).

3.2.3 Muestreo durante el almacenamiento

Este muestreo se basó en recolectar muestras del grano procesado tanto en la bodega de la planta (almacenado en sacos) como en los silos de almacenamiento (a granel). Las muestras fueron obtenidas según las normas establecidas para el muestreo de sacos en almacenamiento (Cuadro 3). Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Control de Calidad del Centro Internacional de Tecnología de Semillas y Granos (CITESGRAN).

Cuadro 3 Número de muestras a tomar según número de sacos en la estiba

Total de sacos en la estiba	Número de sacos a muestrear
0-49	5
50-99	10
100-199	15
200-299	20
300-499	30
500-799	40
800-1299	55

Fuente: Manual de procedimientos de muestreo del IHMA (1980).

3.2.4 Prueba de contaminación

Esta prueba consistió en realizar cultivos en platos petri para verificar que los granos venían infectados del campo, o del almacén, y no que estos se habían contaminado en el laboratorio.

3.2.4.1 Preparación del medio de cultivo. El medio utilizado fue agar dextrosa (de papa) a una razón de 45g de agar por un litro de agua destilada. Una vez realizada la mezcla se procedió a agitarla hasta obtener una solución. Esta solución se colocó junto con los platos petri en una autoclave a 120° C por 20 min. para esterilizarlos completamente y evitar la contaminación del cultivo. Una vez esterilizados se dejó reposar el medio a temperatura ambiente hasta que el medio se enfriara lo suficiente para poder transferirlo a los platos petri (no se debe enfriar demasiado porque se solidifica el medio, ni se debe transferir muy caliente porque ocurre condensación y se empañan los platos petri). El medio se dejó reposar por 24 horas.

3.2.4.2 Transferencia de los granos al medio de cultivo. Para la transferencia de los granos a los platos petri se utilizó una cámara de extracción previamente desinfectada con cloro al 70%. Se colocaron de 4 a 6 granos por plato, desinfectados con una solución de cloro al 1% por 5 segundos para evitar el crecimiento de organismos no presentes en el grano. La transferencia se realizó frente a un mechero para evitar la contaminación del cultivo. Los platos fueron sellados con papel parafina y colocados en una cámara de crecimiento a 25-27°C por tres días para facilitar el desarrollo de los hongos.

3.3 PARÁMETROS EVALUADOS EN LAS MUESTRAS

3.3.1 Humedad

La humedad se determinó en todos los periodos de muestreo, ya que esta representa uno de los factores más influyentes sobre el desarrollo de hongos y por consiguiente en la producción de aflatoxinas. Esta se determinó utilizando un medidor de humedad Motomco 919. El procedimiento consiste en pesar 250 g de muestra (maíz) y colocarla en el vaso recolector. El aparato se calibra a una lectura de 53 (para maíz blanco y amarillo) con el indicador en el punto mínimo del lector. Luego se libera la muestra y se lee el valor en el lector; la humedad está descrita en una tabla de conversión y se corrige según la temperatura.

3.3.2 Daños por insectos y hongos

El análisis comprendió la cuantificación de daño por insectos y daño por hongos que se presentaba en el grano al momento de extraer la muestra. Se determinaron por inspección

visual, determinando el número de mazorcas y granos infectados obteniendo posteriormente un porcentaje del daño total causado por estos factores biológicos.

3.3.3 Densidad aparente

La densidad aparente del grano (peso bushel o kg/hectolitro) es una medida de peso por unidad de volumen. La humedad está estrechamente relacionada a la densidad aparente así como las rajaduras ocasionadas al grano durante la cosecha. Para determinar este parámetro se utilizó un medidor de peso bushel Winchester. La densidad aparente nos sirve para cuantificar reducciones en la densidad del grano durante el almacenamiento debido al ataque de hongos.

3.3.4 Daños al grano después de cosecha

Los daños más importantes ocasionados al grano después de la cosecha lo constituyen las rajaduras y quebraduras. Las quebraduras son apreciables a simple vista pero algunas rajaduras pueden ser imperceptibles. Por esta razón es que se utilizó la prueba verde rápido (verde malaquita) para complementar la inspección visual de los granos. Este procedimiento consistió en contar 400 granos al azar de la muestra, se separaron los granos que presentaban daños como ser quebraduras (pedazos de grano) u otros daños visibles. Los demás granos se colocaron en platos petri y se les agregó la solución de verde malaquita, se sumergieron por tres minutos, luego se les realizó un lavado para eliminar el exceso. Los granos que presentaron daño mostraron una coloración verde profundo en el lugar del daño. Estos granos fueron contados para sumarlos al grano quebrado seleccionado anteriormente y obtener así un porcentaje de daño total.

3.3.5 Dureza

La dureza del grano está relacionada con la resistencia del grano al ataque de hongos y a la composición química del grano. La dureza del grano se determinó utilizando una solución de nitrato de sodio (NaNO_3).

Se utilizaron 178.9g de NaNO_3 por cada 250 ml de agua destilada, se colocó la mezcla en un biker de 250 ml y se mezcló haciendo uso de un agitador de magneto para evitar la producción de calor. La solución fue colocada en una probeta para introducir el hidrómetro y determinar la densidad de la solución estandarizándola a 1.275g/cm^3 . Una vez estabilizada la solución se introdujeron 100 granos en la probeta para poder contar la cantidad de granos flotadores. Se realizaron dos repeticiones por muestra. Los granos flotadores tienen una densidad real menor que la estándar.

3.3.6 Nivel de aflatoxinas

El nivel de aflatoxinas fue determinado mediante el uso del método Veratox que funciona bajo el mismo principio de los métodos ELISA. Este fue realizado a las muestras antes de la cosecha y después del almacenamiento (ver análisis de la muestra).

3.3.7 Condiciones climáticas existentes

Se obtuvieron también los datos recolectados por la estación meteorológica de la Escuela Agrícola Panamericana para determinar cuales fueron las condiciones predominantes en la zona durante el periodo del cultivo. Los datos incluyen temperatura, precipitación y humedad relativa. (Anexo 1).

3.4 MANEJO DE LAS MUESTRAS PARA ANÁLISIS DE AFLATOXINAS

3.4.1 Homogeneización de la muestra

El paso más importante para un análisis de aflatoxinas es obtener una muestra representativa, ya sea en el campo o en el almacén. Luego del muestreo en cada una de las etapas (ver períodos de muestreo) se procedió a homogenizarla para darle mayor oportunidad a toda la muestra de ser seleccionada. Dicha práctica se realizó utilizando divisores/homogenizadores de mesa Boerner.

3.4.2 Molienda y extracción

La muestra homogeneizada se molió utilizando una licuadora de laboratorio hasta obtener un tamaño de partícula similar a la del café instantáneo (malla #20). Una vez obtenido el tamaño de partícula deseado se procedió a realizar la extracción colocando 5 gr de muestra molida en un frasco conteniendo 25 ml de metanol al 70%.

Para lograr una buena extracción de la toxina se agitó la muestra vigorosamente por tres minutos. Luego el extracto obtenido se filtró utilizando un filtro Whatman No. 1 hasta obtener de 5-15 ml. de muestra clara.

3.5 ANÁLISIS DE LA MUESTRA

3.5.1 Procedimiento analítico

El proceso seguido fue el siguiente:

- Se colocó en el portapozos el número indicado de pozos de mezcla según la cantidad de muestras a analizar. En estos pozos se colocaron 100µl (microlitros) de los cuatro controles que contienen concentraciones de 0, 5, 15 y 50 ppb, respectivamente. En los pozos restantes se colocaron las muestras a analizar.
- Luego se agregaron 100µl de conjugado (frasco azul) en cada pozo de mezclado.
- Utilizando pipetas nuevas, se transfirió 100µl de la mezcla muestra-conjugado y control-conjugado recubiertos con el anticuerpo monoclonal mezclando su contenido de arriba hacia abajo con la pipeta tres veces. Luego se incubó por dos minutos.
- Después se procedió a lavar los pozos con agua destilada repitiendo el paso cinco veces golpeando luego el portapozos contra papel toalla para eliminar el agua en los pozos.
- Una vez secos los pozos se añadió 100µl de sustrato (etiqueta verde) en cada pozo con el anticuerpo y luego de mezclarlos se incubó por 3 minutos.
- Luego se añadió con 100µl de reactivo detenedor y se mezcló vigorosamente.
- El paso siguiente consistió en poner los pozos en el lector de micropozos del Veratox para realizar la lectura utilizando un filtro de 650 nm.
- Como último paso la obtención de la lectura (Figura 1).

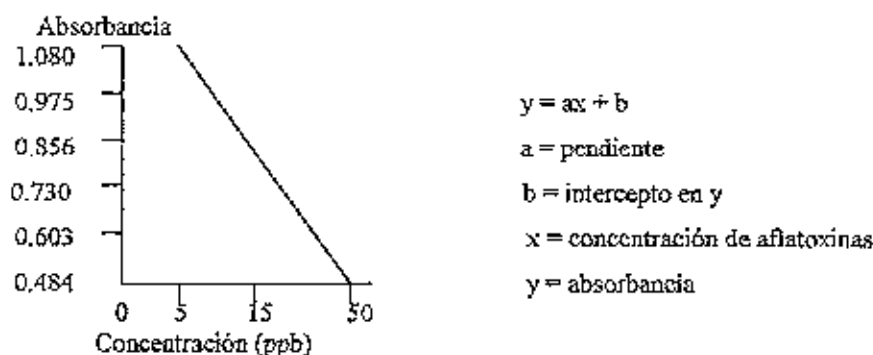


Figura 1. Curva de regresión para transformar absorbancia a concentración de aflatoxinas.

El Veratox no determina directamente la concentración de aflatoxinas; la lectura que realiza es en unidades ópticas que por medio de la curva de regresión pueden ser transformadas a concentración en ppb. Estas unidades ópticas son determinadas a través de la lectura de los controles proporcionados en el kit de reactivos (0, 5, 15, 50 ppb). Esto limita el análisis a determinar concentraciones dentro de este rango únicamente. El Veratox provee un valor "r" que nos determina que tanto se ajusta el modelo a la absorbancia. Este valor debe ser superior a $r = -0.98$ para que el análisis sea válido.

3.6 MATERIALES Y EQUIPO UTILIZADO

Materiales: Semilla de maíz Guayape y HB-104, tamices (malla # 20), bolsas plásticas, reactivos (metanol, NaNO_3), pipetas, papel toalla, platos petri, marcadores, kit de reactivos para Veratox.

Equipo : Medidor de humedad (Motomco 919), termómetro, hidrómetro, divisor/homogeneizador Boerner, medidor de peso Bushel, molino o licuadora de laboratorio, muestreadores alveolares, Veratox.

3.7 ANALISIS ESTADISTICO

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete "Statistical Analysis System" (SAS®) versión 6.12, realizando un análisis de varianza y una separación de medias (Tukey) para cada una de las variables.

Se utilizo este paquete para realizar un estudio de las correlaciones existentes entre:

Humedad vs. concentración de aflatoxinas

Dureza vs. concentración de aflatoxinas

Densidad vs. concentración de aflatoxinas

Daño mecánico vs. concentración de aflatoxinas

Daño por insectos vs. concentración de aflatoxinas

Daño por hongos vs. concentración de aflatoxinas

En el modelo se evaluaron las dos variedades (Guayape y HB-104) se realizaron tres muestreos con tres repeticiones cada uno.

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos recolectados fueron analizadas en forma separada para cada variable.

4.1 CONTENIDO DE HUMEDAD

El modelo utilizado fue altamente significativo para la variable humedad en los seis lotes donde se llevó a cabo la evaluación ($P > 0.0001$). Las medias obtenidas nos indican que en términos generales, no existió diferencia significativa entre la humedad de los lotes (Cuadro 4). No se encontraron diferencias significativas con un alfa de 0.05 entre las repeticiones, lo que indica que las variables se comportaron de una manera uniforme a lo largo del ensayo.

En Zavala se encontró la media de contenido de humedad más alta con 16.95%, con un CV de 5.1% y un R^2 de 0.98 (Anexo 2). La media más baja se reportó en la Vega 5 de Monte Redondo (Cuadro 4). Las medias obtenidas nos indican que no existió diferencia significativa para la variable humedad con respecto a los lotes de producción.

Cuadro 4. Porcentaje de humedad del grano encontrada para lotes de producción, variedad y etapa de muestreo en estudio realizado para determinar la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maíz en Zamorano, 1998.

Variedad	Lote	Cosecha	Secado	Almacenamiento	
Guayape a	Zavala	a	26.533	12.433	11.533
Guayape a	Sta. Inés	a	26.666	12.733	11.766
Guayape a	San Nicolás	a	24.266	14.066	11.900
HB-104 a	Monte Redondo V2-3	a	25.366	12.600	12.066
HB-104 a	Monte Redondo V5	a	26.033	11.833	11.633
HB-104 a	Monte Redondo V6	a	27.066	11.966	11.733
	Medias *		25.988 x	12.605 y	11.902 z

* Medias con igual letra no presentan diferencia significativa a un alfa de 0.05

Nota: letras x,y,z utilizadas para denotar diferencias entre muestreos; a,b y c para diferencias entre lotes y variedades.

Según la comparación de medias utilizando la prueba Tukey a un alfa de 0.05, la humedad a cosecha se vió reducida de 25.98% a 12.60% durante el secado (Cuadro 5). Esto concuerda con lo expresado por Jacobsen (1993) que indica que la humedad del grano debe ser reducida lo más pronto posible a un 13% para poder brindarle al grano un almacenamiento seguro y reducir al mismo tiempo el desarrollo de hongos que puedan causar daños al grano e incluso producir aflatoxinas. Se presentó una pequeña variación entre la humedad después del secado y la de almacenamiento, posiblemente debido a

que el grano de maíz es muy higroscópico y toma o libera humedad al ambiente. Sin embargo, esta diferencia no fue significativa.

En las variedades evaluadas no se presentó ninguna diferencia significativa para la humedad (Cuadro 4), ya que éstas se comportaron de una manera muy similar debido a que el manejo que se les dio luego de la cosecha fue el mismo. La humedad a cosecha no presentó mayores variaciones entre lotes y por ende entre variedades.

La humedad presentó una correlación positiva de 0.904 con relación a la concentración de aflatoxinas encontrada en los granos con una $P > 0.0001$ (Anexo 3). Esto nos indica que a medida se incrementa el contenido de humedad en el grano, se produce una mayor concentración de aflatoxinas. La humedad es uno de los factores que está más relacionado tanto con el desarrollo de hongos como con la producción de aflatoxinas por estos hongos. La concentración de aflatoxinas se ve afectada por la humedad hasta un cierto punto ya que, contenidos de humedad inferiores a 13.5% inhiben el crecimiento de hongo. Pero contenidos de humedad superiores a 20-25% también afectan el desarrollo de hongos en el grano.

Por esta razón, es que la humedad del grano debe ser reducida lo más pronto posible a por lo menos un 13%. Así evitamos que el grano sea expuesto a condiciones de humedad favorables para la infección y desarrollo de hongos que se pueda presentar tanto en el campo como en el almacén.

La humedad relativa encontrada en el campo y luego de la cosecha pudo haber favorecido el desarrollo de hongos en las mazorcas, ya que éstas variaban uniformemente entre los 75 y 85 % (humedad relativa adecuada para el desarrollo de hongos y producción de toxinas). Sin embargo, el exceso de humedad encontrado en el campo debido a las altas precipitaciones de finales de octubre e inicios de noviembre (Anexo 1), tiempo en que algunos lotes debieron ser cosechados, retrasaron la cosecha porque los contenidos de humedad en el grano eran muy elevados. Este tiempo adicional en el campo pudo haber favorecido el desarrollo de hongos que afectarían la mazorca hasta su cosecha.

4.2 DUREZA DEL GRANO

Para esta variable se encontraron diferencias altamente significativas entre muestreos ($P > 0.0001$) al igual que entre los lotes ($P > 0.0025$) donde se llevó a cabo el ensayo, lo mismo que entre las variedades con un alfa de 5%, un R^2 de 0.66 y un CV de 14.85%.

La media más alta de flotadores para esta variable se encontró en la Vega 6 de Monte Redondo con 58.33%, mientras que las más bajas se encontraron en Zavala y San Nicolás con 46.89 y 45.78, respectivamente (Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de granos flotadores en NaNO_3 encontrados por lote de producción, variedad y etapa de muestreo en estudio realizado en Zamorano para determinar la incidencia de aflatoxinas en las variedades Guayape y HB-104, 1998.

Variedad	Lote		Cosecha	Secado	Almacenamiento
Guayape a	Zavala	a	65.333	43.000	32.333
Guayape a	Sta. Inés	ab	67.333	46.000	32.000
Guayape a	San Nicolás	a	65.333	44.666	27.333
HB-104 b	Monte Redondo V2-3	ab	49.333	49.000	48.666
HB-104 b	Monte Redondo V5	ab	57.666	56.333	54.333
HB-104 b	Monte Redondo V6	b	62.333	57.000	55.666
	Medias *		61.222 x	49.389 y	41.722 z

* Medias con igual letra no presentan diferencia significativa a un alfa de 0.05

Nota: letras x,y,z utilizadas para denotar diferencias entre muestreos; a, b y c para diferencias entre lotes y variedades.

Entre los muestreos las diferencias fueron muy marcadas presentándose la mayor cantidad de flotadores a cosecha con 61.22% y la menor en almacenamiento de 41.72% (Cuadro 5). Según Watson (1987) esto se debe a que la dureza también está directamente relacionada con el contenido de humedad del grano ya que el agua tiene una menor densidad que el grano. Por esta razón se deben realizar las pruebas de dureza a granos con contenidos de humedad similares para evitar que existan fluctuaciones debido a la humedad.

En general la variedad HB-104 mostró el mayor número de flotadores (54.30%) indicando que presenta una consistencia más suave que la variedad Guayape con 46.27% de flotadores (Cuadro 5). Esta es una de las principales razones para que exista diferencia entre los diferentes lotes de producción. La dureza del grano está directamente relacionada con la composición del grano, esto se refiere a que el grano presente endospermo harinoso o corneo. Así, los granos que contengan endospermo harinoso son más propensos a la flotación. En el caso de la variedad HB-104 se considera una flotación intermedia considerándose el grano de consistencia dentada. Otro factor que puede influir en la dureza es el grosor del pericarpio y la estructura de la célula en sí.

Esta variable mostró una correlación positiva con un R^2 de 0.68 con una $P > 0.0001$. La correlación se interpreta en que a mayor número de flotadores la concentración de aflatoxinas en el grano tiende a aumentar dada su estrecha relación con la humedad.

Según Watson (1987), la dureza es una característica intrínseca del grano que puede ser modificada por condiciones de manejo postcosecha. La dureza intrínseca del grano puede ser disminuida por un secado inadecuado del grano. Esto provoca fisuras internas en el grano que promueven la quebradura de los granos con mayor facilidad. Si el secado es realizado de manera adecuada estos problemas pueden reducirse sin afectar la calidad final del grano para los determinados usos que se le den.

4.3 DENSIDAD APARENTE

La densidad aparente de los granos fue determinada a través del peso bushel. El modelo no fue significativo para la variable densidad ($P > 0.116$) teniendo un R^2 0.26 y un CV de 3.13% a un alfa de 5%.

La única diferencia encontrada con una $P > 0.06$ se dio entre los muestreos donde la media de cosecha fue 59.24 lb/bushel y la de secado con 57.54 lb/bushel (Cuadro 6). Las variaciones no son muy acentuadas pero concuerdan con lo expresado por Watson (1987) que indica que la humedad del grano afecta muchos factores como en este caso la densidad, ya que a 10% de contenido de humedad del grano la densidad aparente es de 58% de la densidad real del grano, y a 25% de humedad la densidad aparente es 54%. Según Christensen (1969) se puede esperar que un grano húmedo tenga un mayor peso bushel que un grano seco.

Cuadro 6. Densidad aparente (lb/bushel) del grano encontrada por lote de producción, variedad y etapa de muestreo en estudio realizado en Zamorano para determinar la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maíz, 1998.

Variedad	Lote	Cosecha	Secado	Almacenamiento
Guavape a	Zavala a	90.900	55.666	57.466
Guayape a	Sta. Inés a	60.966	57.833	55.866
Guayape a	San Nicolás a	57.776	58.433	63.266
HB-104 a	Monte Redondo V2-3 a	58.566	58.833	56.833
HB-104 a	Monte Redondo V5 a	58.166	57.366	59.066
HB-104 a	Monte Redondo V6 a	59.066	58.533	59.100
	Medias *	59.238 x	57.744 y	58.450 xy

* Medias con igual letra no presentan diferencia significativa a un alfa de 0.05

Nota: letras x, y, z utilizadas para denotar diferencias entre muestreos; a, b y c para diferencias entre lotes y variedades.

Podemos afirmar que para los propósitos de este estudio la densidad aparente del grano no fue una medida importante en la incidencia de aflatoxinas, si no más bien otro factor que es afectado por la humedad del grano que sí tiene influencia directa en la producción de aflatoxinas.

La densidad no se pudo correlacionar por no ajustarse al modelo utilizado y para el daño mecánico se obtuvo un valor poco representativo que indicaba una correlación negativa entre este y la concentración de aflatoxinas debido a que la cosecha se realizó en forma manual. Por esta razón los daños a cosecha resultaron ser mínimos en comparación con los daños presentes tanto al secado como en el almacenamiento.

Esto nos indica que la reducción de la concentración de aflatoxinas en los granos se debieron a otros factores más relacionados y no al porcentaje de daño mecánico presente en cada etapa.

4.4 DAÑO MECÁNICO

El modelo fue altamente significativo para esta variable ($P > 0.0001$), con un R^2 de 0.72 y un CV de 11.78 (Anexo 2). Se encontraron diferencias altamente significativas entre lotes ($P > 0.0002$) y entre muestreos ($P > 0.0001$) a un alfa de 5%, y las variedades no presentaron ninguna diferencia significativa.

La media más alta se encontró en la terraza 5 de San Nicolás con 23.33% de daño mecánico (Cuadro 7), las más bajas se dieron en Zavala y Sta. Inés con medias de 18.67 y 17.89, respectivamente. El comportamiento de los otros lotes fue muy similar existiendo variaciones mínimas.

Cuadro 7. Porcentaje de daño mecánico encontrado por lotes de producción, variedad y etapa de muestreo en estudio realizado en Zamorano para determinar la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maíz, 1998.

Variedad	Lote		Cosecha	Secado	Almacenamiento
Guayape a	Zavala	a	14.333	22.000	17.333
Guayape a	Sta. Inés	ab	12.000	24.333	19.666
Guayape a	San Nicolás	c	20.000	23.666	26.333
HB-104 a	Monte Redondo V2-3	abc	17.222	21.333	24.000
HB-104 a	Monte Redondo V5	bc	17.333	24.333	23.333
HB-104 a	Monte Redondo V6	abc	17.444	23.666	22.666
	Medias *		16.389 x	23.222 y	22.222 xy

* Medias con igual letra no presentan diferencia significativa a un alfa de 0.05

Nota: letras x, y, z utilizadas para denotar diferencias entre muestreos; a, b y c para diferencias entre lotes y variedades.

En general los lotes que presentaron mayor daño mecánico fueron los lotes de Monte Redondo, esto se puede atribuir a que la variedad HB-104 es más suave que Guayape y por consiguiente es más susceptible a este tipo de daño.

Con respecto a la etapa del muestreo se encontraron diferencias únicamente entre cosecha y secado (16.39 y 23.22%, respectivamente). La cosecha presentó un menor porcentaje debido a que esta en la mayoría de los casos se realizó manualmente (los muestreos fueron todos realizados manualmente). El mayor porcentaje de daño lo presentó la etapa de secado (Cuadro 7); esto se debe a que antes de realizar los muestreos, las mazorcas se sometieron a un desgrane mecanizado cuando el contenido de humedad se había reducido.

El porcentaje encontrado después del secado se redujo a un 22.22% ya que antes de almacenarlo se sometió a una selección y limpieza en la que se eliminó parte de los granos dañados en aproximadamente 1%.

La correlación entre daño mecánico y concentración de aflatoxinas resultó altamente significativa indicando una correlación negativa; sin embargo, este dato no debe tomarse en cuenta debido a que nos indica que a mayor daño mecánico existe una menor concentración de aflatoxinas. Este resultado se debe principalmente a que la concentración de aflatoxinas encontradas a cosecha fueron mayores que las que se encontraron en almacenamiento y secado; pero en realidad la disminución de la concentración de aflatoxinas se debió a otros factores que afectan directamente la concentración como son humedad y daño por hongos.

El daño al pericarpio puede ser únicamente superficial penetrando únicamente las capas superiores del mismo. Watson (1987) encontró que los daños ocasionados al grano incrementan notablemente después del desgrane y secado. Estos daños se dan principalmente por los golpes que recibe el grano durante la cosecha mecánica y desgrane. Y también ocasionados por la temperatura de secado que se utiliza así como el tiempo que se destine para esta práctica (secado).

El daño mecánico no tuvo mayor influencia en la concentración de aflatoxinas ya que se esperaba que a mayor daño mecánico se facilitara la infección fungal y por ende la producción de aflatoxinas; sin embargo, esto no sucedió ya que el desarrollo de los hongos se vio afectado por otros factores como ser la reducción del contenido de humedad a un nivel seguro de almacenamiento (13%) y a la selección de los granos.

4.5 DAÑO POR INSECTOS

El modelo resultó altamente significativo para esta variable ($P > 0.0001$) con un R^2 cuadrado de 0.912. Se encontró diferencia altamente significativa para los lotes de producción con una probabilidad de 0.0001 y para los muestreos una $P > 0.003$. Las variedades no presentaron diferencias significativas.

Sta. Inés reportó las medias más altas para esta variable con un 5.22% de daño y la media más baja se encontró en San Nicolás donde el porcentaje de daño fue de apenas 1.89%. Las Vegas de Monte Redondo no mostraron diferencias significativas en cuanto al resto de los lotes al igual que Zavala (Cuadro 8).

Estas diferencias se atribuyen principalmente a la localidad donde se encontraba cada lote, ya que se puede apreciar que las Vegas de Monte Redondo sufrieron un daño bastante uniforme al igual que Sta. Inés y Zavala que son lotes que se encuentran adyacentes y por lo tanto no presentaron diferencias significativas. Sin embargo, San Nicolás conteniendo la misma variedad que Zavala y Sta. Inés reportó daños significativamente inferiores.

El daño por insectos también fue altamente significativo para los muestreos con una probabilidad de 0.0001. Las diferencias significativas para esta variable se presentaron para las épocas de cosecha (10.17%) y secado (1.0%). El daño por insectos fue notablemente mayor a la cosecha (Cuadro 8) donde se presentó un alto porcentaje de

daño en algunas mazorcas. Algunas de éstas incluso presentaban daños en más del 50 % de la mazorca. Este daño se redujo drásticamente durante el secado y almacenamiento debido a que las mazorcas provenientes del campo se sometieron a una selección pre-secado para reducir los daños causados por los insectos de campo y evitar secar grano dañado que deberá ser retirado en procesos posteriores de procesamiento.

Cuadro 8. Porcentaje de daño por insectos encontrado por lote de producción, variedad y etapa de muestreo en estudio realizado en Zamorano para determinar la incidencia de aflatoxinas en las variedades Guayape y HB-104, 1998.

Variedad	Lote		Cosecha	Secado	Almacenamiento
Guayape a	Zavala	ab	11.333	0.666	0.000
Guayape a	Sta. Inés	a	13.666	1.666	0.333
Guayape a	San Nicolás	a	4.666	0.666	0.333
HB-104 a	Monte Redondo V2-3	ab	10.666	1.000	0.333
HB-104 a	Monte Redondo V5	ab	10.666	1.333	0.333
HB-104 a	Monte Redondo V6	ab	10.000	0.666	0.000
	Medias *		10.167 x	1.000 y	0.222 y

* Medias con igual letra no presentan diferencia significativa a un alfa de 0.05

Nota: letras x, y, z utilizadas para denotar diferencias entre muestreos; a, b y c para diferencias entre lotes y variedades.

La correlación entre esta variable y la concentración de aflatoxinas resultó positiva con un coeficiente de correlación 0.9336 y una probabilidad de $P > 0.0001$. Este coeficiente nos indica que esta variable está muy ligada a la concentración de aflatoxinas. Los insectos encontrados en los granos pueden ocasionar muchas pérdidas tanto por los daños que causan directamente a los granos como por los daños indirectos que provocan. Algunos de estos daños incluyen la posibilidad de facilitar la entrada a otros organismos considerados como plagas secundarias que no pueden causar daños directos al grano. Además facilitan la contaminación de los granos con hongos. Los insectos son vectores de *A. flavus* entre otros, siendo capaces de transportar el hongo de un lugar a otro en su exoesqueleto.

Los insectos de los granos almacenados tiene la capacidad de elevar la temperatura en las masas de grano debido a su alta proliferación y actividad metabólica.

Sta. Inés fue el lote que presentó en promedio mayor daño por insectos y podemos apreciar que coincide con la concentración más alta de aflatoxinas encontradas en los lotes de producción (Cuadro 8). De igual manera se puede comparar el lote de San Nicolás que presentó los menores daños por insectos y también las menores concentraciones de aflatoxinas.

4.6 DAÑO POR HONGOS

El daño por hongos es una variable muy importante para determinar la posible presencia de las toxinas en el grano. Sin embargo, como explicamos anteriormente, la presencia de hongos en los granos no significa necesariamente que exista producción de la toxina.

Dentro de esta variable resultaron significativas las diferencias entre lotes y muestreos ($P > 0.0002$). Los lotes de producción que se vieron más afectados por el ataque de hongos en general fueron Sta. Inés y San Nicolás (8.0 % de daño). Los menos afectados de los lotes fueron los de las Vegas 2 y 3 de Monte Redondo que obtuvieron un promedio de 3.78 % de daño (Cuadro 9).

Cuadro 9. Porcentaje de daño por hongos encontrado por lote de producción, variedad y muestreo en estudio realizado en Zamorano para determinar la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maíz, 1998.

Variedad	Lote		Cosecha	Secado	Almacenamiento
Guavape a	Zavala	ab	13.666	5.000	1.333
Guavape a	Sta. Inés	a	18.333	4.000	2.000
Guavape a	San Nicolás	a	23.666	0.666	0.333
HB-104 a	Monte Redondo V2-3	b	10.333	0.666	0.333
HB-104 a	Monte Redondo V5	ab	12.666	1.333	1.333
HB-104 a	Monte Redondo V6	ab	13.333	1.000	0.666
	Medias *		15.500 x	2.222 y	1.000 y

* Medias con igual letra no presentan diferencia significativa a un alfa de 0.05

Nota: letras x, y, z utilizadas para denotar diferencias entre muestreos; a, b y c para diferencias entre lotes y variedades.

En el caso de Sta. Inés y Zavala, el daño por hongos pudo haber sido influenciado por la incidencia de mayor daño por insectos, que contribuyeron a facilitar la entrada de los hongos a las mazorcas que ya no presentaban una cobertura adecuada. En San Nicolás, la presencia de daño fue muy alta; sin embargo, el daño por insectos fue muy leve. Esto nos hace pensar que la incidencia de daño por hongos en este lote se debió a otros factores y no al daño por insectos. Este lote sufrió de una inundación causada por el desbordamiento de una laguna que pudo haber provocado una mayor proliferación de hongos y facilitarles la infección de las mazorcas.

Al igual que para el daño por insectos, el daño por hongos afectó más drásticamente en la época de cosecha llegando en promedio a un porcentaje 15.5 % (Cuadro 9). Estas mazorcas que presentaban daño fueron eliminadas junto con las que presentaban el daño

por insectos (selección en la plancha). Con esta selección se logró reducir el porcentaje de daño a 2.22%.

Con la eliminación de las mazorcas contaminadas se obtuvieron reducciones favorables en el daño por hongos, ya que se logró reducir drásticamente el porcentaje de daño evitando así la proliferación de estos en el almacenamiento y por ende pérdidas que ocasionan estos al grano.

Las variedades evaluadas no presentaron diferencias significativas. Sin embargo, la variedad Guayape obtuvo un promedio de 7.23 % contra 4.78 % de HB-104. Esto se puede apreciar también en el Cuadro 9, donde los lotes que presentaron mayor incidencia de hongos fueron los lotes que contenían la variedad Guayape (posiblemente debido a la mayor incidencia de daño por insectos). Existe la posibilidad de que la menor incidencia sobre todo en el lote Monte Redondo V2-3 se haya debido a un menor daño por insectos posiblemente dado por la localidad.

Además se determinó que la variedad no influyó mucho en la incidencia de hongos ya que se realizó una comparación adicional entre ambas variedades en San Nicolás. La terraza 8 destinada para ensilaje fue cosechada y utilizada para alimentación animal ya que no presentaba buenas características para consumo humano. Este lote fue comparado con la terraza 5 de San Nicolás, que presentó los niveles más altos de contaminación por hongos y resultó ser escasamente inferior a este último.

El daño por hongos está directamente relacionado con la producción de toxina en los granos con un coeficiente de correlación de 0.80 y una $P > 0.0001$. Se sabe que los hongos pueden estar presentes en el grano y no producir la toxina pero al estar presentes nos da una mayor probabilidad de incidencia. Esta correlación nos indica que a mayor daño por hongos mayor concentración de aflatoxinas en la muestra. Los granos normalmente se encuentran infectados por más de un hongo que pueden producir diferentes toxinas.

4.7 CONCENTRACIÓN DE AFLATOXINAS (en ppb)

La concentración de aflatoxinas se encontró altamente significativa para los lotes así como para los muestreos ($P > 0.0001$). Entre las variedades no se percibieron diferencias.

Los lotes de Sta. Inés y Zavala fueron en promedio los que presentaron mayor incidencia de aflatoxinas ($>$ a 3.0 ppb). Sn. Nicolás fue el lote que presentó menor incidencia con un promedio de 1.1 ppb, a pesar de ser el lote que presentó el mayor porcentaje de daño por hongos (Cuadro 10). Los lotes de Monte Redondo presentaron un comportamiento muy similar conteniendo en promedio menos de 2.6 ppb.

Cuadro 10. Concentración (ppb) de aflatoxinas encontrada por lote de producción, variedad y muestreo en estudio realizado en Zamorano para determinar la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maíz, 1998.

Variedad	Lote		Cosecha	Secado	Almacenamiento
Guayape a	Zavala	a	6.8	2.20	0.30
Guayape a	Sta. Inés	a	7.1	2.50	0.55
Guayape a	San Nicolás	bc	2.8	0.50	0.00
HB-104 a	Monte Redondo V2-3	bc	4.2	0.10	0.10
HB-104 a	Monte Redondo V5	ab	5.5	1.55	0.70
HB-104 a	Monte Redondo V6	ab	4.9	1.50	0.50
Medias *			5.217 x	1.392 y	0.385 z

* Medias con igual letra no presentan diferencia significativa a un alfa de 0,05

Nota: letras x, y, z utilizadas para denotar diferencias entre muestreos; a, b y c para diferencias entre lotes y variedades.

Durante la cosecha se reportó la mayor concentración de aflatoxinas llegando a promediar 5.22 ppb. En el almacenamiento se logró reducir la concentración a niveles muy bajos (cuadro 10). En algunos casos después del secado se realizó una segunda selección del grano junto con una limpieza que redujo aun más los niveles de aflatoxinas encontrados.

Estos niveles de aflatoxinas encontrados no son niveles alarmantes, pero no todos los productores practican la selección de los granos; por "ganar un poco más" dejan mucho grano infectado que dependiendo de las condiciones de almacenamiento o el manejo posterior que se le de puede ocasionar pérdidas enormes. Es importante la creación de un organismo oficial que regule la contaminación de los granos que son destinados tanto para el consumo humano y animal, ya que muchas instituciones encargadas del almacenamiento y procesamiento de granos no toman las medidas necesarias para evitar que estos problemas se presenten en sus instalaciones.

4.8 CONDICIONES CLIMÁTICAS ENCONTRADAS EN ZAMORANO DURANTE LA REALIZACIÓN DEL ENSAYO.

La precipitación en Zamorano durante los meses en que se llevó a cabo el ensayo fue muy variable entre los meses. Los meses que se incluyeron en el estudio fueron de agosto a diciembre de 1998 y enero de 1999, que fueron los meses que de alguna manera pudieron afectar el grano tanto en el campo como a comienzos del almacenamiento.

La precipitación más alta se dio en el mes de octubre, llegando a los 595.79 mm (Figura 2). Esto se debió a las influencias del desastre natural (Mitch) que azotara a nuestro país durante finales de octubre y principios de noviembre. La precipitación más baja se

encontró en los meses de diciembre y enero las cuales no superaron los 17 mm. Durante octubre las lluvias se distribuyeron muy bien a lo largo del mes; sin embargo, la precipitación más alta se reportó el día 31 con 133.6 mm (Anexo I). El primero de noviembre se reportaron 155.60 mm de precipitación, siendo esta la más alta de todos los meses, también ocasionada por el huracán "Mitch".

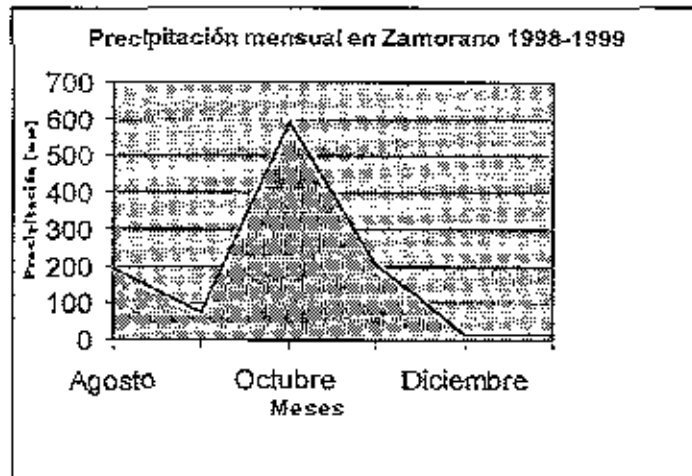


Figura 2. Precipitación mensual encontrada en Zamorano de agosto 1998 a enero 1999

La humedad relativa es un factor muy importante para calcular el tiempo de secado que se le debe dar a un grano y para determinar el contenido de humedad en el grano necesario para un almacenamiento seguro del grano. La humedad relativa también tiene mucha influencia en el desarrollo de hongos y en la producción de toxinas.

La humedad relativa tuvo menos variaciones que la precipitación. Sin embargo la más alta se reportó en el mes de octubre debido a que fue en este mes donde se encontró la mayor precipitación (Figura 3). En el mes de agosto se reportó la humedad relativa más baja (72.39 %) debido a la escasa precipitación encontrada en este mes.

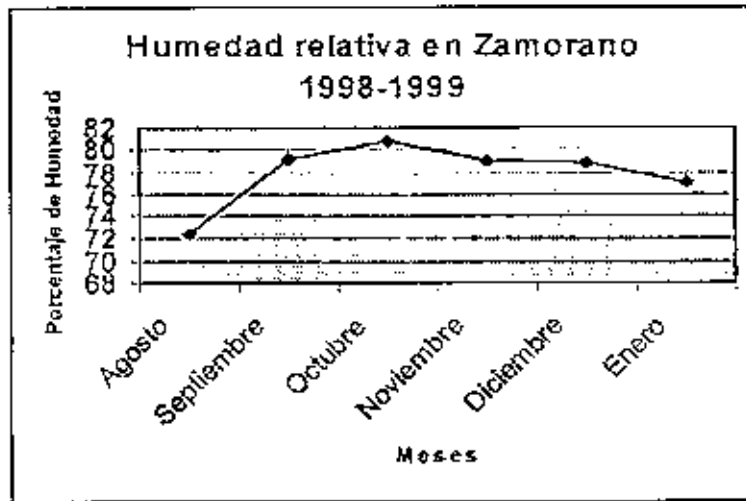


Figura 3. Humedad relativa encontrada en Zamorano de agosto 1998 a enero 1999

Las temperaturas máximas y mínimas no variaron a través de los meses encontrándose en promedio aproximadamente 28°C para la máxima y 18°C para la mínima (Anexo 1).

V. CONCLUSIONES

1. No existió diferencia en relación a la incidencia y concentración de aflatoxinas entre las variedades HB 104 y Guayape.
2. La concentración de aflatoxinas correlacionó positivamente con la humedad, dureza, daño por insectos y daño por hongos.
3. La densidad aparente fue igual para ambas variedades y no tiene influencia sobre la concentración de aflatoxinas y su variación durante los muestreos está relacionada con el contenido de humedad.
4. La selección de los granos antes del secado y la reducción del contenido de humedad a 13% disminuyen notablemente la incidencia de aflatoxinas y proporcionan un almacenamiento seguro.
5. El manejo postcosecha (selección, secado, desgrane, almacenamiento, etc.) del grano fue el más influyente en la reducción de aflatoxinas a través de los muestreos.

VI. RECOMENDACIONES

1. El maíz debe ser cosechado con un contenido de humedad de un 22 a 23 %, ya que se ha determinado que a este contenido de humedad los daños a cosecha se reducen notablemente, sobre todo cuando se utiliza cosecha mecánica.
2. El grano proveniente del campo debe ser seleccionado eliminando mazorcas que presenten daño por hongos y por insectos, para reducir los daños provocados por estos factores en etapas posteriores de almacenamiento.
3. Se recomienda realizar un estudio comparando las variedades e híbridos más usadas en el país en los mismos lotes para determinar de manera más precisa las variaciones debidas a las localidades.
4. Realizar estudios de comparación entre estas variedades y otros materiales comerciales mejorados presentes en el mercado.
5. Analizar los granos para determinar la concentración de aflatoxinas antes de realizar cualquier compra de grano que sea destinado para alimentación humana o animal.
6. Realizar un estudio posterior para evaluar la incidencia de otras micotoxinas en el grano de maíz.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSON, H.W. 1975. Aflatoxin contamination of corn in the field. *J. Agric. Food Chem.* 23: 775- 782.
- BAIRD, R.E. 1995. Corn mycotoxins. Georgia State University Cooperative Extension Service. Georgia, Estados Unidos. SEFP. 26 p.
- BUESO, F.J. 1998. Micotoxinas en granos para la alimentación humana y animal. Folleto de módulo de Tecnología de Alimentos. Escuela Agrícola Panamericana. Honduras. 11 p.
- CAMPOS, M. 1987. Relación entre micotoxinas y alimentación en los países en Desarrollo. Segunda Conferencia Internacional Mixta FAO/OMS/PNUMA sobre Micotoxinas, Bangkok, Tailandia, 28 de septiembre- 3 de octubre. In: Taller Conjunto FAO/OPS sobre Prevención y Control de Micotoxinas en América Latina y El Caribe (1991, SAN JOSÉ C.R.). 1991. [Memoria] Roma, Italia, FAO. 126 p.
- CAST. 1989. Mycotoxins: Economic and health risks. Task Force Rep. 116. Council for Agricultural Science and Technology. Ames, Iowa, Estados Unidos. 91 p.
- CHELKOWSKI, J. 1991. Mycotoxins, fungi and quality in drying and storage. Warsaw, Polonia. Elsevier. 607 p.
- CHRISTENSEN, C.M. 1976. Contaminación por hongos en granos almacenados. Traducido del inglés al español por el Dr. Ernesto Moreno Martínez. Editorial Pat México, México. 199 p.
- CHRISTENSEN, C. 1980. Advances in cereal science and technology: Micotoxins. Pomeranz. Kansas, Estados Unidos. AACC. Vol. 3. 347 p.
- FAO, 1982. Perspectiva sobre micotoxinas. Alimentación y Nutrición. Roma, Italia. No. 13. 182 p.
- FAO, 1991. Capacitación en análisis de micotoxinas. Manuales para el control de calidad en los alimentos. Alimentación y Nutrición. Roma, Italia. No. 14/10.

- FIJESSEN, M. 1987. Métodos actuales para determinar la exposición humana a las micotoxinas. Segunda Conferencia Internacional Conjunta FAO/OMS/PNUMA sobre Micotoxinas. Bangkok, Tailandia, 28 de septiembre al 3 de octubre. In: Taller conjunto FAO/OPS sobre Prevención y Control de Micotoxinas en América Latina y El Caribe. 1991. [Memoria] Roma, Italia, FAO. 126 p.
- HESELDTINE, C.W. y Mehlhman M.A. 1978. Mycotoxins; In human and animal Health. Park Forest South, IL., Estados Unidos. Pathotox. 340 p.
- JACOBSEN, B.J. 1993. Mycotoxins and mycotoxicoses. Alabama State University Cooperative System. Auburn, Alabama, Estados Unidos. Circular ANR-767. 12 .p
- JONES, F.T. 1993. Understanding and coping with the effects of mycotoxins in live stock feed and forage. USDA. North Carolina Extension service. AG-523. 16 p.
- LILLEHOJ, E.B. and Wall, J.H. 1987. Decontamination of aflatoxin-contaminated maize p. 280-284 In: M.S. Zuber, E.B. Lillehoj, eds. Aflatoxin in maize: A proceeding of the workshop. CIMMYT, Mexico, Mexico.
- LUMSDEN, R.D. 1981. Ecology of mycoparasitism. 295-318 p. In: D.T. Wicklow and G.C. Carroll (eds.), The fungal community, it's organization and role in ecosystem. Marcel Dekker, New York, Estados Unidos.
- MILLER, J.D. 1994. Mycotoxins in grain: Compounds other than aflatoxin. Minnesota, Estados Unidos. Eagan Press. 552 p.
- MIROCHA, C. 1980. Advances in cereal science and technology: Micotoxins. Pomeranz. Kansas, Estados Unidos. AACC. Vol 3. 347 p.
- NYVALL, R.F. 1976. Aflatoxins. Iowa State University. Ames, Iowa, Estados Unidos, 6 p.
- POSTCOSECHA, 1995. Micotoxinas, peligros ocultos en los alimentos. Boletín Informativo. Programa POSTCOSECHA/COSUDE/EAP/INFOP. 8 p.
- RAMIREZ, G. 1978. Almacenamiento y conservación de granos y semillas. CESCA. México. 300 p.
- RAMIREZ, M. 1980. Insectos y almacenamiento de granos. Naturaleza 12 (2): 92-102.
- RICHARD, J.L. and Thurston, J.R. 1986. Diagnosis of mycotoxicoses. Martin Nijhoff. Boston, Estados Unidos. 336 p.

- RODRICKS, J.V. 1976. Mycotoxins and other fungal related food problems. Advances in Chemistry Series 149. Washington D.C., Estados Unidos. ACS. 549 p.
- RODRICKS, J.V. 1978. Diagnosis of mycotoxicoses. Park Forest South, IL., Estados Unidos. Pathotox. 432 p.
- SAUER, D.B. 1992. Storage of cereal grains and their products: Moisture and its measurement. Sauer. Cuarta edición. Kansas, Estados Unidos. AACC. 615 p.
- SCOTT, P.M. 1991. Possibilities of reduction or elimination of micotoxins present in cereal grains. Chelkowski. Warsaw, Polonia. Elsevier. 529- 572 p.
- TARR, B. 1996. Molds and Mycotoxins: Alleviating mold and mycotoxin problems. OMAFRA. SEFP. 4p.
- WATSON, S. 1987. Corn: Chemistry and technology. Ames, Iowa, Estados Unidos. AACC. 605 p.
- WICKLOW, D. 1991. Epidemiology of *Aspergillus flavus* in corn. Iowa State University Experiment Station. Iowa, EEUU. Bulletin No. 599. 90 p.
- WILSON, D. 1992. Storage of cereal grains and their products: Micotoxins. Sauer. Cuarta Edición. Kansas, Estados Unidos. AACC. 615 p.

VIII ANEXOS

Anexo I. Datos climatológicos en el valle de Zamorano (1998-1999)

Agosto, 1998

Fecha	Prec.(mm)	T°max.	T°min.	H° relativa
1	0.0	28.20	20.80	83
2	5.0	28.30	16.60	78
3	6.1	28.60	14.20	85
4	0.0	29.60	25.50	75
5	0.0	28.80	23.50	79
6	0.0	28.70	19.90	76
7	1.1	30.10	19.60	74
8	40.0	30.20	26.50	85
9	0.0	30.30	17.90	76
10	0.0	30.40	18.30	65
11	0.0	30.60	26.50	72
12	0.0	30.70	18.20	68
13	0.0	30.60	20.50	69
14	9.5	30.20	19.80	67
15	0.0	31.10	19.20	66
16	0.0	29.40	18.40	67
17	X	29.20	18.20	67
18	1.0	31.00	18.30	73
19	0.0	31.00	25.20	65
20	1.0	30.60	17.00	68
21	38.1	30.70	25.00	66
22	0.0	31.70	19.60	74
23	0.0	30.00	16.00	68
24	0.0	30.00	19.80	68
25	8.0	32.50	26.00	65
26	27.6	31.20	18.00	76
27	1.1	31.40	16.50	73
28	0.0	30.00	19.50	64
29	37.1	29.50	19.00	80
30	2.1	31.00	18.60	80
31	16.1	31.10	18.50	72
Total/Prom	193.65	30.22	20.02	72.39

Septiembre, 1998

Fecha	Prec.(mm)	T°max.	T°min.	H° relativa
1	4.04	31.60	18.0	76
2	0.00	28.50	20.0	80
3	3.02	29.70	19.6	80
4	0.40	29.50	19.0	80
5	0.60	27.00	20.5	81
6	1.40	27.00	20.6	85
7	9.08	28.70	19.2	88
8	0.00	27.20	20.0	86
9	0.00	27.20	20.6	80
10	0.00	24.40	19.6	72
11	0.00	24.30	19.3	76
12	0.00	29.40	18.0	76
13	0.00	28.40	19.8	77
14	0.00	30.00	21.0	85
15	0.00	29.80	20.2	80
16	0.00	28.00	20.0	81
17	3.20	29.70	17.0	80
18	0.00	31.00	18.6	79
19	0.00	30.80	18.3	88
20	0.00	30.20	19.6	71
21	0.00	32.60	19.9	84
22	0.00	32.20	19.0	68
23	0.00	26.00	31.9	72
24	41.00	32.50	19.0	76
25	1.05	30.60	20.0	85
26	12.04	30.20	19.2	75
27	0.00	30.00	19.0	75
28	0.80	31.60	20.5	87
29	0.80	31.00	18.5	77
30	0.00	30.20	17.5	73
Total/Prom	77.43	29.31	19.78	79.1

Octubre 1998

Fecha	Prec. (mm)	T° max.	T° min.	H° relativa
1	0.0	29.40	19.0	68
2	3.0	30.00	18.5	76
3	11.1	29.40	19.4	80
4	13.1	29.00	20.0	81
5	4.0	27.30	19.5	88
6	20.0	29.60	20.3	90
7	0.4	29.40	19.5	85
8	9.1	29.30	20.7	90
9	13.0	28.20	17.3	76
10	17.1	29.20	19.0	77
11	20.8	26.40	20.3	78
12	39.1	27.00	20.6	80
13	11.1	28.00	19.0	80
14	33.8	28.00	26.5	85
15	30.4	29.60	17.9	80
16	32.4	28.20	28.0	80
17	0.9	28.40	20.5	80
18	57.0	27.60	18.4	72
19	2.8	29.50	17.0	73
20	21.8	29.00	16.8	80
21	6.3	30.60	19.8	76
22	22.6	30.00	21.0	80
23	18.0	30.00	20.7	73
24	2.0	29.80	18.0	80
25	2.8	28.00	19.7	80
26	4.7	27.70	18.0	80
27	2.2	27.00	19.2	86
28	6.8	27.00	21.5	90
29	0.0	26.80	18.4	87
30	56.0	27.00	20.4	90
31	133.6	27.20	20.0	x
Total/Prom	695.79	28.5	19.84	80.7

Noviembre 1998

Fecha	Prec. (mm)	T° max.	T° min.	H° relativa
1	155.60	24.20	20.0	90
2	11.40	28.20	21.0	85
3	3.40	27.20	21.6	84
4	1.00	26.50	21.0	90
5	1.80	28.40	20.3	85
6	0.40	28.00	20.6	82
7	0.00	25.30	19.3	86
8	0.00	26.00	19.0	80
9	0.00	27.40	18.5	85
10	3.40	27.00	19.8	80
11	0.20	25.00	19.0	x
12	2.00	27.90	21.0	78
13	0.00	28.00	20.5	72
14	0.00	27.90	15.8	77
15	0.00	27.30	15.7	80
16	0.00	27.00	16.7	78
17	0.00	28.00	20.0	84
18	0.80	27.80	20.6	82
19	2.70	26.70	20.5	80
20	0.00	27.90	17.4	80
21	20.80	28.60	20.5	88
22	1.90	27.80	18.4	80
23	0.00	27.20	17.5	80
24	0.00	27.80	15.0	78
25	0.00	26.70	18.7	86
26	1.50	28.40	19.0	80
27	0.00	27.80	10.0	81
28	0.00	27.20	15.2	77
29	0.70	27.00	17.4	80
30	0.00	27.80	18.2	84
Total/Prom	207.6	27.33	18.61	79.07

Diciembre 1998

Fecha	Prec. (mm)	T° max.	T° min.	H° relativa
1	0.0	27.9	18.5	72
2	0.0	27.8	19.0	86
3	0.4	26.8	17.6	76
4	0.0	27.5	16.5	72
5	0.0	28.5	15.0	74
6	0.0	28.6	18.5	73
7	0.0	28.9	17.9	78
8	0.0	28.0	18.7	77
9	4.8	28.4	19.8	68
10	0.0	28.3	x	84
11	0.0	28.4	x	72
12	0.0	29.2	x	76
13	0.0	27.9	x	78
14	0.0	26.3	x	88
15	0.0	26.0	x	80
16	0.0	27.4	x	80
17	0.0	27.0	x	75
18	0.0	27.0	x	85
19	0.0	27.8	x	78
20	0.0	26.9	x	84
21	5.0	26.3	x	90
22	0.3	27.0	x	78
23	0.0	25.3	x	85
24	2.1	26.3	x	86
25	0.0	26.7	x	80
26	0.0	26.7	x	80
27	1.0	27.2	x	85
28	0.0	27.6	x	80
29	0.0	27.5	x	72
30	0.0	27.4	x	80
31	0.0	27.7	x	73
Total/Prom	13.57	27.43	17.94	78.87

Enero 1999

Fecha	Prec. (mm)	T° max.	T° min.	H° relativa
1	0.0	26.70	x	80
2	0.0	29.50	x	85
3	0.0	28.70	x	80
4	0.0	29.50	x	85
5	0.0	28.40	x	78
6	0.0	27.60	x	80
7	1.0	27.20	x	76
8	0.0	27.40	x	77
9	0.0	27.00	x	80
10	0.0	27.90	x	82
11	0.0	28.00	x	85
12	0.0	29.60	x	72
13	0.0	28.70	x	74
14	0.0	29.70	x	69
15	0.0	29.00	x	68
16	0.0	29.50	x	78
17	1.8	28.60	x	80
18	0.0	27.80	x	73
19	0.0	29.00	x	85
20	3.9	27.30	x	76
21	0.3	28.00	x	72
22	0.0	27.30	x	65
23	0.0	26.30	x	74
24	0.0	26.80	x	80
25	0.0	28.70	x	72
26	0.0	27.90	x	74
27	0.0	26.30	x	74
28	6.4	27.80	x	78
29	0.0	26.50	x	80
30	0.0	27.4	x	80
31	2.8	27.4	x	78
Total/Prom	16.2	27.98	0	77.1

Anexo 2. ANDEVA (Diferencia de medias) del ensayo para determinar la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maíz realizado en Zamorano, 1998.

Factor	R ²	C.V.	CME	Media	Prob.
Humedad	0.9861	5.103	0.8567	16,788	0.0001
Dureza	0.6556	14.848	7.5233	50,667	0.0001
Densidad	0.2589	3.135	1.8338	58,477	0.1158
D. mecan.	0.7235	11.783	2.4287	20,611	0.0001
D. insec.	0.9127	41.719	1.5837	3.796	0.0001
D. hongos	0.895	41.281	2.5762	6,241	0.0001
Ppb. Aflatoxinas	0.9376	28.783	0.668	2.322	0.0001

Nota: CV=Coefficiente de Variación; CME= Cuadrado Medio del Error; Prob.= Probabilidad

Anexo 3. Análisis de correlación (Pearson) entre concentración de aflatoxinas (ppb) y las variables evaluadas en el ensayo para determinar la incidencia de aflatoxinas realizado en Zamorano, 1998.

Concentración	Humedad	Dureza	Densidad	D. mecánico	D. insectos	D. hongos
r	0.90	0.68	0.26	-0.73	0.93	0.81
Prob.	0.0001	0.0001	0.112	0.0001	0.0001	0.0001