



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

**CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS**

con la colaboración del

**CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

Departamento de

**CIENCIAS VETERINARIAS**

Tesis

**PERSISTENCIA DE *Aspergillus flavus* TOXIGÉNICO EN CULTIVOS DE MAÍZ  
EN AGUASCALIENTES DURANTE CICLOS AGROECOLÓGICOS  
CONSECUTIVOS**

Que presenta

**BIÓL. LILIA PAULINA SILVA SERNA**

Para obtener el grado de

**MAESTRA EN CIENCIAS, ÁREA DE TOXICOLOGÍA**

Tutor

**DR. EN C. ARTURO GERARDO VALDIVIA FLORES**

Comité Tutoral

**DRA. EN C. ALMA LILIÁN GUERRERO BARRERA**

**DRA. EN C. ELSA MARCELA RAMÍREZ LÓPEZ**

**Aguascalientes, Ags., 10 de junio de 2023**

CARTA DE VOTO APROBATORIO  
COMITÉ TUTORAL

M. en C. JORGE MARTÍN ALFÉREZ CHÁVEZ  
DECANO (A) DEL CENTRO BÁSICAS

PRESENTE

Por medio del presente como Miembros del Comité Tutorial designado del estudiante **LILIA PAULINA SILVA SERNA** con ID 148730 quien realizó la tesis titulado, **PERSISTENCIA DE ASPERGILLUS FLAVUS TOXIGÉNICO EN CULTIVOS DE MAÍZ EN AGUASCALIENTES DURANTE CICLOS AGROECOLÓGICOS CONSECUTIVOS**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia damos nuestro consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que nos permitimos emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que *ella* pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Ponemos lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE

"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., 30 de mayo de 2023.

Dr. En C. Arturo Gerardo Valdivia Flores  
Tutor de tesis

Dra. En C. Elsa Marcela Ramírez López  
Asesor de tesis

Dra. En C. Alma Lilián Guerrero Barrera  
Asesor de tesis

c.c.p.- Lilia Paulina Silva Serna  
c.c.p.- Dra. Raquel Guerrero Alba, Secretaría Técnica del Programa de Posgrado

Elaborado por: Depto. Apoyo al Posgrado.  
Revisado por: Depto. Control Escolar/Depto. Gestión de Calidad.  
Aprobado por: Depto. Control Escolar/ Depto. Apoyo al Posgrado.

Código: DO-SEE-FO-16  
Actualización: 00  
Emisión: 17/05/19



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

CCBASICAS/ 066/2023

LILIA PAULINA SILVA SERNA  
ESTUDIANTE DE LA MAESTRÍA  
EN CIENCIAS AREA DE BIOTECNOLOGÍA VEGETAL O TOXICOLOGÍA  
P R E S E N T E.

Estimada Alumna:

Por medio de este conducto me permito comunicar a Usted que habiendo recibido los votos aprobatorios de los revisores de su trabajo de tesis y/o trabajo práctico titulado: "PERSISTENCIA DE ASPERGILLUS FLAVUS TOXIGÉNICO EN CULTIVOS DE MAÍZ EN AGUASCALIENTES DURANTE CICLOS AGROECOLÓGICOS CONSECUTIVOS", hago de su conocimiento que puede imprimir dicho documento y continuar con los trámites para la presentación de su examen de grado.

Sin otro particular me permito saludarle muy afectuosamente.

ATENTAMENTE  
"SE LUMEN PROFERRE"

Aguascalientes, Ags., 31 de mayo del 2023

EL DECANO

M. en C. JORGE MARTIN ALFREZ CHAVEZ



DICTAMEN DE LIBERACIÓN ACADÉMICA PARA INICIAR LOS TRÁMITES DEL EXAMEN DE GRADO



Fecha de dictaminación dd/mm/aa: \_\_\_\_\_

NOMBRE: Lilia Paulina Silva Serna ID 148730

PROGRAMA: Maestría en Ciencias, Área de Toxicología LGAC (del posgrado): Toxicología

TIPO DE TRABAJO:  Tesis ( ) Trabajo práctico  
 TÍTULO: PERSISTENCIA DE ASPERGILLUS FLAVUS TOXIGÉNICO EN CULTIVOS DE MAÍZ EN AGUASCALIENTES DURANTE CICLOS AGROECOLÓGICOS CONSECUTIVOS

IMPACTO SOCIAL (señalar el impacto logrado): Generación de información que repercute en implementación de medidas de acción por parte de los productores para mitigar los posibles daños y/o contaminación por Aspergillus

INDICAR SI/NO SEGÚN CORRESPONDA:

Elementos para la revisión académica del trabajo de tesis o trabajo práctico:

- SI El trabajo es congruente con las LGAC del programa de posgrado
- NO La problemática fue abordada desde un enfoque multidisciplinario
- SI Existe coherencia, continuidad y orden lógico del tema central con cada apartado
- SI Los resultados del trabajo dan respuesta a las preguntas de investigación o a la problemática que aborda
- SI Los resultados presentados en el trabajo son de gran relevancia científica, tecnológica o profesional según el área
- SI El trabajo demuestra más de una aportación original al conocimiento de su área
- SI Las aportaciones responden a los problemas prioritarios del país
- SI Generó transferencia del conocimiento o tecnológica

El egresado cumple con lo siguiente:

- SI Cumple con lo señalado por el Reglamento General de Docencia
- SI Cumple con los requisitos señalados en el plan de estudios (créditos curriculares, optativos, actividades complementarias, estancia, predoctoral, etc)
- SI Cuenta con los votos aprobatorios del comité tutorial, en caso de los posgrados profesionales si tiene solo tutor podrá liberar solo el tutor
- NA Cuenta con la carta de satisfacción del Usuario
- SI Coincide con el título y objetivo registrado
- SI Tiene congruencia con cuerpos académicos
- SI Tiene el CVU del Conacyt actualizado
- NA Tiene el artículo aceptado o publicado y cumple con los requisitos institucionales (en caso que proceda)

En caso de Tesis por artículos científicos publicados:

- NA Aceptación o Publicación de los artículos según el nivel del programa
- NA El estudiante es el primer autor
- NA El autor de correspondencia es el Tutor del Núcleo Académico Básico
- NA En los artículos se ven reflejados los objetivos de la tesis, ya que son producto de este trabajo de investigación.
- NA Los artículos integran los capítulos de la tesis y se presentan en el idioma en que fueron publicados
- NA La aceptación o publicación de los artículos en revistas indexadas de alto impacto

Con base a estos criterios, se autoriza se continúen con los trámites de titulación y programación del examen de grado Sí  X  
No

FIRMAS

Elaboró: Dra. Elsa Marcela Ramírez López  
 \* NOMBRE Y FIRMA DEL CONSEJERO SEGÚN LA LGAC DE ADSCRIPCIÓN:

Dra. Raquel Guerrero Alba  
 NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO TÉCNICO:

\* En caso de conflicto de intereses, firmará un revisor miembro del NAB de la LGAC correspondiente distinto al tutor o miembro del comité tutorial, asignado por el Decano.

Revisó: Dr. Juan Jauregui Rincón  
 NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO:

Autorizó: M en C. Jorge Martín Alférez Chávez  
 NOMBRE Y FIRMA DEL DECANO:

Nota: procede el trámite para el Depto. de Apoyo al Posgrado

En cumplimiento con el Art. 105C del Reglamento General de Docencia que a la letra señala entre las funciones del Consejo Académico: ... Cuidar la eficiencia terminal del programa de posgrado y el Art. 105F las funciones del Secretario Técnico, llevar el seguimiento de los alumnos.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma de Aguascalientes por el apoyo institucional que brindo durante el tiempo en el que se cursó la Maestría en Ciencias: área de biotecnología vegetal o toxicología. Al Centro de Ciencias Básicas y al Centro Ciencias Agropecuarias por brindar espacios e instrumental necesario para elaboración y cumplimiento del presente trabajo. A CONACyT por el financiamiento y asignación de la beca de posgrado 2021-000001-01NACF-13870.

Por su constante e invaluable guía, a mi tutor el Dr. Arturo Gerardo Valdivia Flores, de igual manera agradezco a la Dra. Alma Lilián Guerrero Barrera y a la Dra. Elsa Marcela Ramírez López por el aporte y la asesoría dada. Al equipo de trabajo del Laboratorio de Investigación de la Posta Zootécnica de la Universidad Autónoma de Aguascalientes por darme las herramientas y el conocimiento necesario.

A mis padres, a mis hermanas, a mi sobrina y a mis mascotas que me han acompañado con mucha paciencia y amor. A mis amigos que a pesar de todo han decidido ser apoyo emocional y compañeros de aventuras.

**DEDICATORIA**

El apacible cielo se ha cubierto de nubes llevándose consigo el agotador delirio de “no poder más”, has fijado tu mirada hacia el distante horizonte con tantas promesas que temes al futuro que parece alcanzarte, pero te has vestido de los colores de un país de maravillas ocultando entre ellos tu locura y el miedo naciente. Te abraza el viento travieso de otoño y decides aun con esperanza que “puedes con todo” después de una larga travesía has superado al peor de los enemigos.

*-A mi familia, a mis amigos y la pequeña niña que alguna vez fui.*



**ÍNDICE GENERAL**

RESUMEN .....6

ABSTRACT.....7

INTRODUCCIÓN .....8

CAPITULO 1. ANTECEDENTES.....10

    1.1 *Aspergillus flavus*.....10

        1.1.1. Estructura .....10

        1.1.2 Fisiología .....11

        1.1.3 Toxicología.....11

    1.2 CONTAMINACIÓN POR AFLATOXINAS.....12

        1.2.1 Mundial .....13

        1.2.2 México .....14

        1.2.3 Aguascalientes .....15

        1.2.4 Sustratos.....15

        1.2.5. Regulación de la contaminación.....15

        1.2.6. Métodos de control .....17

    1.3 MAÍZ.....19

        1.3.1 Producción .....20

        1.3.2 Usos .....21

        1.3.3 Manejo .....21

        1.3.4. Genética.....22

        1.3.5. Sistema de producción.....22

        1.3.6. Época del año .....23

        1.3.7. Plagas y enfermedades .....24

    1.4 FACTORES .....24

        1.4.1 Bióticos .....24

        1.4.2 Climáticos .....25

CAPITULO 2: JUSTIFICACIÓN .....26

CAPITULO 3: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....27

    3.1. HIPÓTESIS.....27

    3.2. OBJETIVO GENERAL .....27

3.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
3.3.1. Muestreo de suelo y ensilaje de maíz.....	27
3.3.2. Aislamiento e identificación de hongos toxigénicos.....	27
3.3.3. Identificación y cuantificación de micotoxinas.....	27
3.3.4. Evaluación de factores participantes.....	27
CAPITULO 4: MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
4.1. DISEÑO GENERAL DEL ESTUDIO.....	28
4.2 MUESTREO DE SUELO Y ENSILAJE DE MAÍZ.....	29
4.3. IDENTIFICACIÓN DE HONGOS TOXIGÉNICOS.....	30
4.4. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MICOTOXINAS.....	31
4.5. EVALUACIÓN DE FACTORES PARTICIPANTES.....	31
CAPITULO 5: RESULTADOS.....	32
5.1. IDENTIFICACIÓN DE HONGOS TOXIGÉNICOS.....	32
5.2. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MICOTOXINAS.....	35
5.3. EVALUACIÓN DE FACTORES PARTICIPANTES.....	38
CAPITULO 6: DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	39
6.1. IDENTIFICACIÓN DE HONGOS TOXIGÉNICOS.....	39
6.2. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MICOTOXINAS.....	39
6.3. EVALUACIÓN DE FACTORES PARTICIPANTES.....	40
CAPITULO 7: CONCLUSIONES.....	41
GLOSARIO.....	42
REFERENCIAS.....	44
INDICE DE ANEXOS.....	51



**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1 Periodos de siembra y cosecha de maíz en México..... 24

Figura 2 Mapa de la ubicación de las Unidades de Producción Lechera (UPL) que participaron en el estudio ..... 28

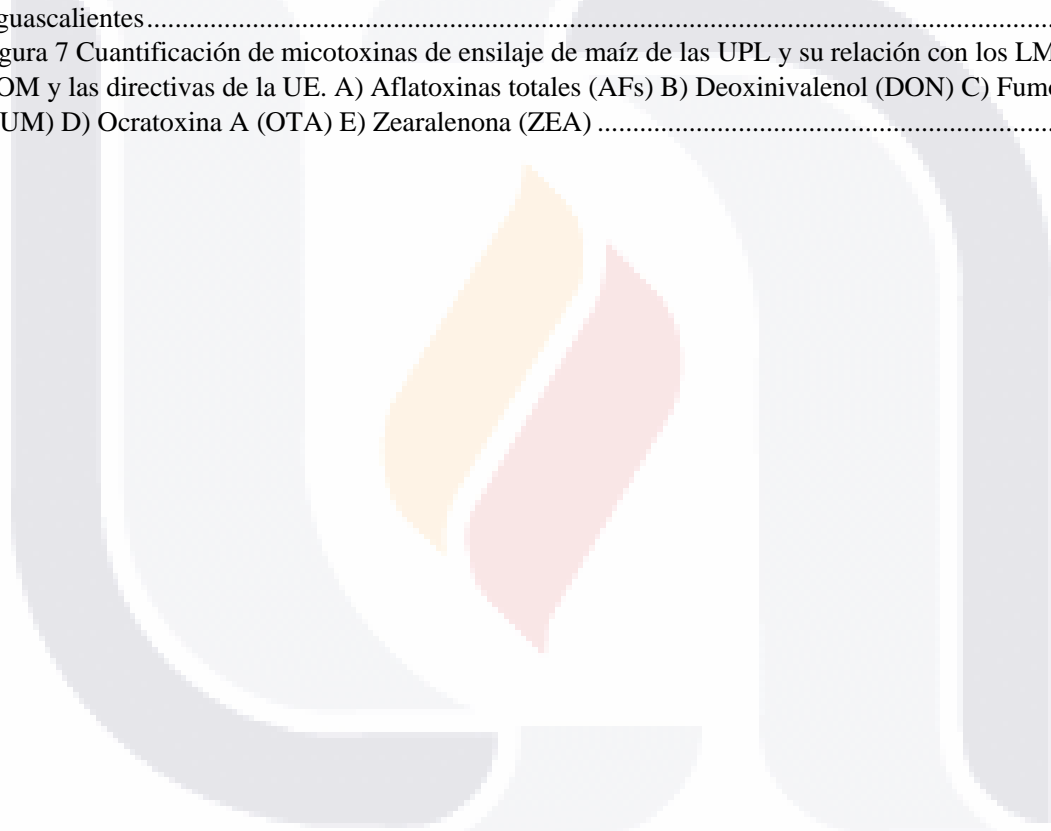
Figura 3 Calendario de muestreos en UPL participantes de acuerdo con el ciclo agroecológico..... 29

Figura 4 Esquema de representación de la técnica de muestreo en forma de “M”. Cada vértice representa un punto de muestreo..... 29

Figura 5 Frecuencia de géneros fúngicos en suelo agrícola de 10 unidades de producción lechera al final del ciclo agroecológico 2021 y al inicio del ciclo 2022 (porcentaje de aislados en cada ciclo: 134 y 182) ..... 32

Figura 6 Frecuencia de géneros fúngicos en ensilaje de maíz fresco (ciclo 2021) y ensilaje de maíz con tres meses de almacenamiento en 10 unidades de producción lechera ubicadas en el Valle de Aguascalientes..... 33

Figura 7 Cuantificación de micotoxinas de ensilaje de maíz de las UPL y su relación con los LMP de la NOM y las directivas de la UE. A) Aflatoxinas totales (AFs) B) Deoxinivalenol (DON) C) Fumonisina (FUM) D) Ocratoxina A (OTA) E) Zearalenona (ZEA) ..... 37



**INDICE DE TABLAS**

Tabla 1 Contaminación por Aflatoxinas (AF) en muestras de maíz a nivel mundial..... 14

Tabla 2. Límites máximos permisibles (LMP) de micotoxinas en materia prima destinada a consumo animal ..... 16

Tabla 3 Límites máximos permisibles (LMP) de aflatoxina B<sub>1</sub> en piensos de ganado bovino ..... 17

Tabla 4 Límites máximos permisibles (LMP) de micotoxinas en maíz y derivados destinados a la alimentación animal ..... 17

Tabla 5 Tipos de manejos en los cultivos de maíz..... 22

Tabla 6 Características macroscópicas y microscópicas de hongos toxigénicos encontrados en las muestras de suelo agrícola y de ensilaje de maíz ..... 34

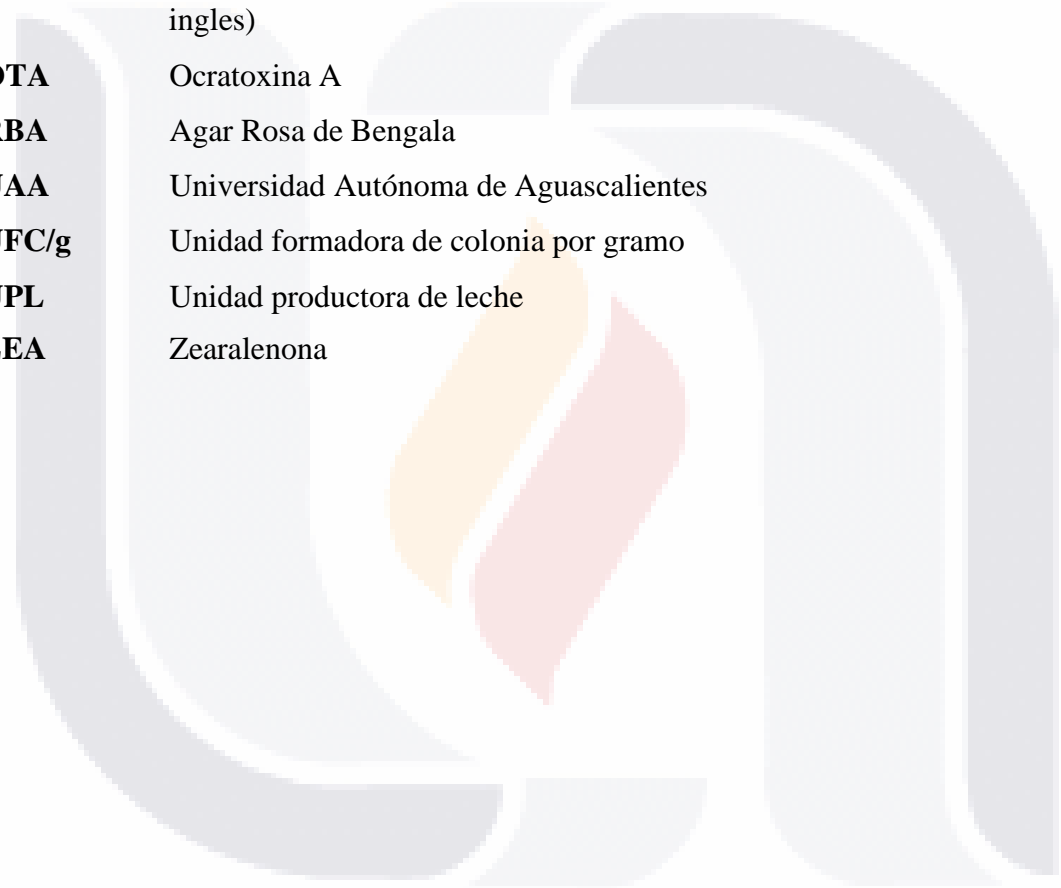
Tabla 7 Identificación y cuantificación de micotoxinas en muestras de ensilaje de maíz..... 35

Tabla 8 Comparación de medias de los factores con relación a AF..... 38



**ACRÓNIMOS**

<b>AF</b>	Aflatoxina
<b>DON</b>	Deoxinivalenol
<b>ELISA</b>	Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (por sus siglas en ingles)
<b>FUM</b>	Fumonisin
<b>GAPs</b>	Buenas prácticas agrícolas (por sus siglas en ingles)
<b>IARC</b>	Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (por sus siglas en ingles)
<b>OTA</b>	Ocratoxina A
<b>RBA</b>	Agar Rosa de Bengala
<b>UAA</b>	Universidad Autónoma de Aguascalientes
<b>UFC/g</b>	Unidad formadora de colonia por gramo
<b>UPL</b>	Unidad productora de leche
<b>ZEA</b>	Zearalenona



## RESUMEN

Se analizó la presencia de hongos toxigénicos durante dos ciclos agroecológicos consecutivos muestreados bajo lineamientos normativos mexicanos (técnica “M”) en unidades de producción lechera (UPL) del estado de Aguascalientes, Méx. El procesamiento de las muestras se realizó en el Laboratorio de Investigación de la Posta Zootécnica del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, México. Se analizaron 40 muestras en total, 10 tomadas en octubre 2021 de suelo agrícola, 10 en enero 2021 de ensilaje de maíz, 20 restantes en marzo 2022 también de ensilaje almacenado (tres meses). Para conocer la concentración de aflatoxinas y otras micotoxinas, se cuantificaron con competitivo directo, su siembra e incubación se hizo en Agar Rosa de Bengala con técnica vaciado en placa por diluciones, se hizo conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) concluyendo con la identificación taxonómica y morfológica de las colonias fúngicas donde el 100% de las muestras de los ciclos presentaron crecimiento fúngico, las muestra de suelo agrícola a finales del 2021 presentaron un total de 134 colonias fúngicas de diferentes géneros, los cuales fueron: *Penicillium* (58.2%), *Aspergillus* (35.1%), *Trichoderma* (3.7%), *Rhizopus* (2.2%) y *Mucor* (0.7%), las muestras de suelo agrícola a inicio de ciclo 2022 tuvieron un total de 182 colonias; *Penicillium* (66.5%), *Aspergillus* (18.7%), *Eurotium* (7.7%), *Rhizopus* (3.3%), *Cladosporium* (2.7%) y *Trichoderma* (1.1%). El 50% de muestras de ensilaje de maíz del ciclo 2021 y primer mes del 2022 presentaron un; 50% (*Penicillium*), 25% (*Fusarium*), 12.5% (*Aspergillus*) y 12.5% (*Rhizopus*) y las muestras de ensilaje del mismo periodo con almacén de 3 meses registraron crecimiento en el 80% de ellas, correspondiendo a; 81.8% (*Aspergillus*), 6.8% (*Penicillium*), 4.5% (*Rhizopus*), 4.5% (*Candida*) y 2.3% (*Mucor*). Por chi cuadrada se demostró diferencia significativa con la frecuencia de géneros fúngicos con relación al tiempo de almacenamiento y otros factores ambientales.

**Palabras clave:** micotoxinas, suelo agrícola, ensilaje de maíz, Aguascalientes

## ABSTRACT

The presence of toxigenic fungi was studied during two consecutive agroecological cycles sampled under Mexican regulatory guidelines ("M" technique) in dairy production units (LPU) in the state of Aguascalientes, Mexico. Sample processing was performed at the Research Laboratory of the Zootechnical Posta of the Centro de Ciencias Agropecuarias of the Universidad Autónoma de Aguascalientes, Mexico. A total of 40 samples were analyzed, 10 taken in October 2021 from agricultural soil, 10 in January 2021 from corn silage, 20 remaining in March 2022 also from stored silage (three months). To know the concentration of aflatoxins and other mycotoxins, they were quantified with direct competitive, their sowing and incubation was done in Rose Bengal Agar with the technique of pouring in plate by dilutions, A count of Colony Forming Units (CFU/g) was made, concluding with the taxonomic and morphological identification of fungal colonies where 100% of the samples of the cycles showed fungal growth, the agricultural soil samples at the end of 2021 showed a total of 134 fungal colonies of different genera, which were: *Penicillium* (58.2%), *Aspergillus* (35.1%), *Trichoderma* (3.7%), *Rhizopus* (2.2%) and *Mucor* (0.7%), the agricultural soil samples at the beginning of cycle 2022 had a total of 182 colonies; *Penicillium* (66.5%), *Aspergillus* (18.7%), *Eurotium* (7.7%), *Rhizopus* (3.3%), *Cladosporium* (2.7%) and *Trichoderma* (1.1%). The 50% of corn silage samples from the 2021 cycle and first month of 2022 presented a; 50% (*Penicillium*), 25% (*Fusarium*), 12.5% (*Aspergillus*) and 12.5% (*Rhizopus*) and silage samples from the same period with 3 months storage registered growth in 80% of them, corresponding to; 81.8% (*Aspergillus*), 6.8% (*Penicillium*), 4.5% (*Rhizopus*), 4.5% (*Candida*) and 2.3% (*Mucor*). Chi-square showed a significant difference in the frequency of fungal genera in relation to storage time and other environmental factors.

**Key words:** mycotoxins, agricultural soil, corn silage, Aguascalientes

## INTRODUCCIÓN

Los hongos, término que incluye a los mohos y las levaduras, son de los organismos más abundantes y comunes en la naturaleza, pudiéndolos encontrar en diferentes medios como en el suelo, en el agua y en el aire, aunque los hongos patógenos en cuestiones de temperatura, pH y nutrientes son más específicos para su supervivencia (Martínez, 2005; Navarro Reyes, 2013)

Los hongos cumplen un rol importante en la dinámica de los ecosistemas desempeñando papeles para la conservación del equilibrio, como el ciclo de la materia y de la energía, se han llegado a utilizar en programas de control y participan en la producción de humus del suelo, pero su presencia también llega a ser un problema indeseable (Arenas Guzmán y Torres Guerrero, 2019; Cepero, 2012).

Dentro de la agricultura los hongos fitopatógenos son responsables de enfermedades en los cultivos de hortalizas, cereales y frutas, ocasionando pérdidas económicas y alteraciones en el ciclo biológico de la planta, además de que uno de los efectos más importantes de la descomposición, tanto de los frutos como de las semillas, radica en la inducción de enfermedades en animales y humanos que consumen alimentos contaminados, ocasionando micotoxicosis, la cual se da a causa de algunos metabolitos secundarios tóxicos de los hongos (Agrios, 2005; Cepero, 2012; Juárez-Becerra *et al.*, 2010)

Los cuales son compuestos no esenciales para el crecimiento del hongo, en donde se pueden encontrar los antibióticos y las micotoxinas, estas últimas pueden presentar una alta toxicidad tanto para el humano como para animales, tal es el caso de las aflatoxinas (AF) (Robledo *et al.*, 2001; Soriano del Castillo, 2015; Yu *et al.*, 2005). Las aflatoxinas son producidas por *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* y *Penicillium puberulum*, estas micotoxinas tienen una mayor presencia en climas tropicales y subtropicales afectando principalmente a cultivos de sorgo, maíz, algodón y cacahuete, aunque también se han asilado en arroz, soja, girasol, sésamo, olivo, nueces, almendras, avellanas, legumbres, café, leche, pescado y en derivados de los alimentos antes mencionados, además de que es considerada como la micotoxina más potente y cancerígena que se produce de manera natural, estas pueden actuar suprimiendo la fagocitosis, evitando la apoptosis de los macrófagos o produciendo Acetil

coenzima A como factor de invasión (Arenas Guzmán y Torres Guerrero, 2019; Navarro Reyes, 2013; Yu *et al.*, 2005; Yunus *et al.*, 2011).

Dentro de las aflatoxinas se han descrito diferentes tipos de acuerdo con su estructura, siendo las principales la B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> y M<sub>2</sub>, en donde la B<sub>1</sub> es considerada la más tóxica entre ellas, ya que se trata de un potente carcinogénico, iniciando tumores principalmente en el hígado, pero también en riñón, pulmón y colon (Amaike y Keller, 2011; Shan y Williams, 2014). Mientras que la M<sub>1</sub> se trata de un metabolito producto de la B<sub>1</sub> que suele excretarse a través de la leche y de la orina de los humanos y animales que ingirieron alimentos contaminados (Yu *et al.*, 2005).

Aunado a lo anterior y considerando que en México el cultivo de maíz (*Zea mays L.*) tiene una gran importancia económica, social y cultural, con un consumo anual promedio *per cápita* de 196.4 kg de maíz blanco (Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentos, 2017) además de que también forma parte fundamental del alimento que se destina para el sector ganadero ya que se estima que se produce más de 16 millones de toneladas al año para este sector (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2021), esto debido a que una parte se destina para la elaboración de ensilado de maíz para alimentar al ganado (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020)

Considerando que la producción de aflatoxinas se ve beneficiada por las condiciones del sustrato, factores bioquímicos, biológicos y condiciones ambientales (Carvajal, 2013) además de que el maíz es cultivado en una gran variedad de suelos por cuestiones de cada productor, con condiciones particulares y específicas de cada uno (Bautista *et al.*, 2009) se vuelve necesario conocer cada uno de los factores que intervienen en la producción de aflatoxinas para así lograr mitigar los efectos negativos tanto económicos como de salud que estas representan.

## CAPITULO 1. ANTECEDENTES

### *1.1 Aspergillus flavus*

Los hongos del género *Aspergillus* pueden llegar a ocasionar problemas en la salud humana y animal, llegando a ser los causantes de enfermedades como aspergiloma, enfermedad pulmonar alérgica, onicomicosis, entre otras (Arenas Guzmán y Torres Guerrero, 2019).

Los hongos del género *Aspergillus* son mohos filamentosos que reciben su nombre por el parecido de su vesícula y esporas con el instrumento “aspergillum”, con una distribución cosmopolita y con más de 250 especies descritas (Fernández *et al.*, 2014; Steenwyk *et al.*, 2019). De acuerdo con características fenotípicas, fisiológicas y análisis filogenéticos el género *Aspergillus* se divide en secciones, en donde se destaca la sección Flavi con 33 especies de las cuales se encuentran representantes de importancia médica como *A. flavus*, y *A. parasiticus*, (Fernández *et al.*, 2014; Barroyeta *et al.*, 2013).

*A. flavus* además de lo anterior es un hongo patógeno que afecta a cultivos entre los que se encuentra el de maíz haciendo que su infección ocasione pérdidas económicas además de que *A. flavus* está asociada a la contaminación por aflatoxinas (AF), siendo esta la micotoxina más cancerígena que se produce de manera natural (Rodríguez, 2018; Yu *et al.*, 2005). Esta especie se considerado omnipresente en el suelo que requiere de fuentes ricas en nutrientes que suele obtener de restos orgánicos, cultivos de cereales o de otras fuentes (Jallow *et al.*, 2021)

#### **1.1.1. Estructura**

El género *Aspergillus* se caracteriza por la producción de hifas especializadas llamadas conidios, en la cual se pueden apreciar tres partes bien diferenciadas: vesícula, estípite y célula de pie (Abarca, 2000). La vesícula es la parte apical del conidióforo con una apariencia globosa, el estípite es la porción cilíndrica y se encuentra por debajo de la vesícula y la célula del pie se localiza en la parte final pudiendo estar septada o no estarlo (Bernnett y Hunter, 1998).



Para la identificación de *A. flavus* se requiere de observar sus características macroscópicas y microscópicas. Las colonias de *A. flavus* en medio de cultivo Czapek-Dox (CYA) muestran una coloración olivácea a amarillenta con micelio blanco, los esclerocios si están presentes son de color café oscuro a negro, de tamaño y forma variable; el reverso puede ser incoloro, café claro o anaranjado, esta colonia por lo general es de textura lanosa (Abarca, 2000). Las características macroscópicas suelen variar de acuerdo con el medio de cultivo utilizado.

Por su parte entre las características microscópicas se encuentran cabezas conidiales uniseriadas y biseriadas, estípites rugosos, hialinos o café pálido; su vesícula es globosa, cubierta por métulas; y los conidios son de globosos a elipsoides, lisos o ligeramente rugosos (Abarca, 2000).

### **1.1.2 Fisiología**

Las especies representantes del género *Aspergillus* tienen características únicas y requerimientos específicos, por lo que la presencia de sus especies estará determinada por condiciones ecológicas de cada sitio, por lo que no todas las especies de este género tienen la capacidad de contaminar los mismos productos agrícolas (Jallow *et al.*, 2021).

Para el caso de *A. flavus*, es una especie cuyos requerimientos de temperatura oscilan entre los 12-18°C, siendo una temperatura óptima de crecimiento a los 37°C (Rudramurthy *et al.*, 2019). Esta especie suele encontrarse en el suelo y en cultivos de cereales como el maíz (Jallow *et al.*, 2021).

*A. flavus* es considerada como una especie aflatoxigénica por ser capaz de producir AF, para lo cual requiere una temperatura de entre 12-42°C con una temperatura óptima de 30°C para la producción de estas micotoxinas (Bogantes-Ledezma *et al.*, 2004).

### **1.1.3 Toxicología**

*A. flavus* tienen la capacidad de colonizar y producir AF que es la micotoxina más tóxica y dañina que afecta a la salud de los animales y del ser humano, ingresando al organismo a

través de la inhalación, con el contacto de la piel y las mucosas, y la ingesta de comida contaminada y generando una serie de problemas derivado de los efectos tóxicos de la micotoxina (Carvajal, 2013; Toso *et al.*, 2018), los cuales se han detectado en gran parte de la población por la exposición a las AF (Jallow *et al.*, 2021).

Los efectos tóxicos de las AF dependerán de cada especie, la edad, el sexo, la dosis y el tiempo de exposición, dividiéndose la sintomatología en esta última (Barroyeta *et al.*, 2013). De acuerdo con el tiempo de exposición a las AF, los efectos tóxicos en la salud se pueden clasificar de dos maneras: intoxicación aguda e intoxicación crónica (Serrano-Colli y Cardona-Castro, 2015).

La intoxicación aguda por AF se da por la ingesta de altas concentraciones de la micotoxina produciendo efectos agudos a corto plazo que se caracteriza por vómitos, diarrea, hemorragias, necrosis, abortos, defectos de coagulación, nefrotoxicidad, cardiotoxicidad y hepatotoxicidad, este tipo de intoxicación puede provocar la muerte (Serrano-Colli y Cardona-Castro, 2015; Carvajal, 2013). Por su parte la exposición crónica se produce por la exposición a bajas concentraciones de AF por largo tiempo teniendo efectos crónicos como teratogénesis, mutagénesis, hepatitis, cirrosis, aplasia del timo, desnutrición proteica, carcinogénesis e inmunodepresión (Serrano-Colli y Cardona-Castro 2015; Carvajal, 2013).

## **1.2 CONTAMINACIÓN POR AFLATOXINAS**

Las especies de *A. flavus* y *A. parasiticus* son capaces de producir AF, que son metabolitos secundarios que no son necesarios para el crecimiento del hongo y que reciben el nombre de micotoxinas (Soriano del Castillo, 2015; Yu *et al.*, 2005).

Se considera a las AF como omnipresentes en una gran variedad de cultivos que son destinados al consumo humano y animal, esto debido a la capacidad de los hongos productores de AF de establecerse en cualquier punto de la cadena de producción de alimentos a causa de diversos factores, en los que se incluyen los climáticos y los referidos a las prácticas agrícolas (Jallow *et al.*, 2021).

Las AF son catalogadas por la Agencia Internacional sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) como integrantes del grupo 1 de cancerígenos, en el cual se encuentran aquellas sustancias que son cancerígenos para el ser humano (Jallow *et al.*, 2021).

Además, las AF se clasifican de acuerdo con su estructura siendo estas las B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> y M<sub>2</sub>, en donde las B<sub>1</sub> es considerada la más toxica por ser un potente carcinogénico (Amaike y Keller, 2011; Shan y Williams, 2014).

Por lo que las AF son una de las micotoxinas con mayor interés toxicológico, aunado a sus efectos a la salud y a su alta frecuencia en cultivos destinados al consumo animal y del ser humano (Awuchi *et al.*, 2022). Además, de repercutir en el ámbito económico con la pérdida de los cultivos contaminados (Rodríguez, 2018; Yu *et al.*, 2005).

### **1.2.1 Mundial**

El maíz es un alimento básico dentro de la población humana y que se suele sembrar en regiones donde las condiciones de clima favorecen la presencia de hongos aflatoxigénicos, lo que convierte al maíz en la principal vía de exposición de las AF (Jallow *et al.*, 2021).

Dada la importancia del maíz como base alimenticia a nivel mundial se suelen realizar estudios sobre la contaminación que presenta el maíz y sus derivados en cuestión de micotoxinas, derivado de esto se estima que entre 60-80% de los cultivos a nivel mundial están contaminados por AF (Jallow *et al.*, 2021).

Se han realizado diversos estudios para la cuantificación de AF en maíz en diferentes países (Tabla 1), que de acuerdo con los distintos resultados se ha llegado a la conclusión que esta micotoxina es de interés mundial al ser capaz de contaminar a alimentos considerados básicos o de primera necesidad (cereales y semillas), como el maíz, ya que son estos productos los más susceptibles a ser infestados por los hongos responsables de producirlas (Martínez Miranda *et al.*, 2013; Jallow *et al.*, 2021).

Tabla 1 Contaminación por Aflatoxinas (AF) en muestras de maíz a nivel mundial

TIPO DE AFLATOXINA	MUESTRAS CONTAMINADAS (%)	PAÍS
AF totales	37.7	Ghana
	25.8	Uganda
	100	Etiopía
	88.4	Nigeria y Benín
	40	Argentina
	64.6	Perú
	75	Italia
	48.2	Serbia
	50	Paquistán
	AF B <sub>1</sub>	76
15		Colombia
33.71		Vietnam

NOTA: Tabla modificada de Worldwide aflatoxin contamination of agricultural products and foods: From occurrence to control (Jallow *et al.*, 2021)

### 1.2.2 México

En México, se han realizados diversos estudios con respecto a la presencia de AF en el maíz, en donde cabe señalar que se ha encontrado que los niveles de AF más altos están en estos productos y en sus derivados (Jallow *et al.*, 2021).

De estos estudios se ha logrado identificar que, en México, el maíz se encuentra contaminado por AF, aunque no superen los límites máximos permisibles (LMP) estipulados por la NOM-247-SSA1-2002 de 20 µg/kg, todas y cada una de las muestras fueron positivas a la presencia de AF (Londoño-Cifuentes y Martínez-Miranda, 2017).

En otro estudio realizado en este país para determinar la AF B<sub>1</sub> se concluyó que de las muestras analizadas de maíz (171 muestras), el 18% superaban el LMP de la norma mexicana y el 26% se encontraba por encima de lo estipulado en los reglamentos de la Unión Europea (UE) (Jallow *et al.*, 2021).

### **1.2.3 Aguascalientes**

En el Estado de Aguascalientes se han realizado estudios de detección de micotoxinas en muestras de ración total mezclada, en las que se encontró la presencia de hongos del género *Aspergillus* y de AF, en las que el 90.4% de las muestras analizadas sobrepasaron el LMP recomendado por las legislaciones internacionales para alimentos destinados al consumo de ganado lechero (Álvarez, 2021).

### **1.2.4 Sustratos**

El suelo es un componente esencial del ambiente donde se desarrolla la vida, forma parte de los ciclos bioquímicos, brinda además una alta variedad de microhábitats para el desarrollo de la biodiversidad microbiana y funge como reservorio del inóculo de hongos que pueden afectar a los cultivos (Cervantes, 2016; CONABIO, 2019; Pacasa-Quisbert *et al.*, 2017; Silva-Arroyave y Correa-Restrepo, 2009).

Este componente a pesar de ser un factor abiótico por su constante interacción con el medio no permanece estático y sus características van fluctuando con el tiempo (Flores-Chávez, 2014), además es en este sitio donde se pueden desarrollar actividades como la agricultura y la ganadería, donde el tipo de suelo, la vegetación nativa y las prácticas agrícolas que suelen implementar fertilizantes y métodos para el control de plagas son factores que afectan a la microbiota (Pacasa-Quisbert *et al.*, 2019).

### **1.2.5. Regulación de la contaminación**

A nivel internacional existen normativas que buscan controlar la cantidad de micotoxinas en los piensos y alimentos destinados al consumo tanto animal como humana, con la finalidad de minimizar los daños a la salud (Jubert y Echeverria, 2022). Para el desarrollo de estas normativas se suelen considerar los conocimientos científicos y los factores sociales, además

de la capacidad de detección de los organismos que las regulan por lo que cada país o región cuentan con LMP distintos (Jallow *et al.*, 2021).

*1.2.5.1. Codex Alimentarius (NOMs)*

La Organización Mundial de la Naciones Unidas por la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) establece en el *Codex Alimentarius* los límites máximos permisibles de los contaminantes y toxinas en los alimentos destinados al consumo animal y humano (Tabla 2).

Tabla 2. Límites máximos permisibles (LMP) de micotoxinas en materia prima destinada a consumo animal

<b>MICOTOXINA</b>	<b>PRODUCTO</b>	<b>LMP (µg/kg)</b>
Aflatoxina B <sub>1</sub>	Materia prima para la elaboración de alimentos	20
Deoxinivalenol	Granos de maíz	1,000
Fumonisina (B1+B2)	Granos de maíz	4,000
Ocratoxina	Cereales	5

NOTA: Tabla modificada del CXS 193-1995 General standard for contaminants and toxins in food and feed del *Codex Alimentarius* de la FAO/WHO.

*1.2.5.2. Unión Europea (Directivas EU).*

En la Unión Europea (EU) existen normativas en cuestión de sustancias indeseables que pueden contaminar los alimentos con los que se alimentan a los animales. En la Directiva 2003/100/CE de la comisión del Parlamento Europeo y del consejo sobre sustancias indeseables en la alimentación animal se establecen límites máximos permisibles (LMP) de la aflatoxina B<sub>1</sub> en los productos destinados a la alimentación animal (Tabla

Tabla 3 Límites máximos permisibles (LMP) de aflatoxina B<sub>1</sub> en piensos de ganado bovino

<b>PRODUCTO</b>	<b>LMP (µg/kg)</b>
Toda materia prima para la alimentación animal	20
Piensos para bovinos	20
Piensos completos para ganado lechero	5
Piensos complementarios para bovino	20

NOTA: Tabla modificada de la Directiva 2003/100/CE de la comisión del Parlamento Europeo y del consejo sobre sustancias indeseables en la alimentación animal.

En el reglamento (CE) N°1881/2006 de la EU por el que se fija el contenido máximo de contaminantes en los productos alimenticios, se encuentran lo LMP de algunas micotoxinas que se pueden encontrar en el maíz y en sus derivados (Tabla 4)

Tabla 4 Límites máximos permisibles (LMP) de micotoxinas en maíz y derivados destinados a la alimentación animal

<b>MICOTOXINA</b>	<b>PRODUCTO</b>	<b>LMP (µg/kg)</b>
Aflatoxina B <sub>1</sub>	Todos los cereales y derivados a base de cereales	2
Aflatoxinas totales	Todos los cereales y derivados a base de cereales	4
Deoxinivalenol	Maíz no elaborado	1,250
Fumonisina (B <sub>1</sub> +B <sub>2</sub> )	Maíz no elaborado	2,000
Ocratoxina	Maíz no elaborado	5
Zearalenona	Maiz no elaborado	1,750

### 1.2.6. Métodos de control

Dadas las condiciones que se requieren para el establecimiento del hongo y la producción de la AF, es casi imposible evitar la contaminación por estas en los cultivos, por lo que existen métodos que buscan prevenir y minimizar el desarrollo de los hongos, logrando así que la exposición a sus micotoxinas sea la mínima posible (Toso *et al.*, 2018; Jallow *et al.*, 2021).

Este tipo de técnicas se suelen llevar a cabo como parte de las Buenas Prácticas Agrícolas (GAPs, por sus siglas en ingles) en las que se encuentran técnicas las prácticas de

rotación de cultivo, uso de variedades resistentes, control de plagas y técnicas de mantenimiento del suelo, además de incluir los métodos de control (Jallow *et al.*, 2021).

Los métodos de control o también llamados de descontaminación de las AF se pueden clasificar en tres: biológicos, químicos y físicos (Martínez Miranda, Vargas del Río y Gómez Quintero, 2013).

#### *1.2.6.1. Biológico*

Los métodos de control biológicos utilizan a otros organismos o microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) para competir por el espacio y los nutrientes del lugar, logrando de esta manera desplazar o inhibir el crecimiento de las cepas toxigénicas con el uso de cepas de los hongos no toxigénicos y así reducir la cantidad, de AF (Borja y Calvo, 2017). Este método es bastante utilizado en países del Oeste de África y Estados Unidos (Jallow *et al.*, 2021).

De las especies que se pueden utilizar como un biocontrol para *A. flavus* toxigénico son propiamente cepas de *A. flavus* no aflatoxigénicos y especies del género *Trichoderma* que ha demostrado una excelente capacidad de inhibir la producción de AF, además de algunos géneros de bacterias tales como *Bacillus spp.*, *Sterptomyces spp.*, *Pseudomonas spp.*, y algunos otros que al igual que los géneros fúngicos tienen una gran capacidad para inhibir la producción (Jallow *et al.*, 2021).

También se puede hacer uso de enzimas biotransformadoras que modifiquen a la AF y la degraden en metabolitos menos tóxicos, o también hacer uso de extractos de plantas que degraden a la AF (Martínez Miranda *et al.*, 2013).

#### *1.2.6.2. Químico*

Los métodos de control químicos se caracterizan por la utilización de sales orgánicas, ácidos orgánicos, procesos de amonificación y uso de agentes aglutinantes (Borja y Calvo, 2017; Martínez Miranda *et al.*, 2013). El método de amonificación es considerado como uno de los más viables y económicos para la descontaminación y consiste en agregar amoniaco gaseoso en los cultivos de un área sellada, obteniendo un cultivo descontaminado y seguro para su consumo en animales (Martínez Miranda *et al.*, 2013).



OTROS MÉTODOS QUÍMICOS SON LA NIXTAMALIZACIÓN (O HIDRÓLISIS ALCALINA) Y LA OZONIFICACIÓN, EN DONDE EL OZONO REACCIONA CON LOS DOBLES ENLACES DEL FURANO DE LA MOLÉCULA DE AF PRODUCIENDO DERIVADOS COMO ALDEHÍDOS, CETONAS Y ÁCIDOS GRASOS (Martínez Miranda *et al.*, 2013).

#### 1.2.6.3. Físico

Los métodos físicos consisten en separar a la micotoxina de la matriz utilizando las propiedades físicas como lo son los tratamientos de segregación por densidad o los procesos de degradación por calor (Borja y Calvo, 2017). De los métodos físicos más comunes están la extracción con solvente tales como etanol, metanol-agua, acetona acuosa al 90%, etc. con la finalidad de que el solvente remueva las trazas de la micotoxina (Martínez Miranda *et al.*, 2013).

También en esta categoría se hace uso de agentes absorbentes que cuentan con la capacidad de secuestrar a las AF y así evitar su disociación en los organismos (Martínez Miranda *et al.*, 2013). Otro método físico utilizado es someter las AF a altas temperaturas (237-306°C) para degradar a la micotoxina, aunque este tipo de técnicas suelen afectar a las cualidades organolépticas de los alimentos (Martínez Miranda *et al.*, 2013; Borja y Calvo, 2017).

### 1.3 MAÍZ

El maíz (*Zea mays L.*) es considerado como uno de los cultivos básicos para la alimentación humana alrededor del mundo ya que constituye una de las principales fuentes de alimento en las distintas poblaciones (Sánchez Ortega, 2014).

La planta de maíz es robusta con tallo simple y erecto que puede alcanzar hasta los 4 m de altura, carece de ramificaciones y de entrenudos, pero si tiene una médula esponjosa. Presenta una inflorescencia masculina llamada espigón de coloración amarillenta, que posee una gran cantidad de granos (20-25 millones de granos), por su parte la inflorescencia femenina tiene una menor cantidad de granos (alrededor de 1,000 granos) que forman espádices, las hojas son largas y extensas en forma de lanza con extremos cortante y con

vellosidades en la parte superior (SIAP,2022).

Los cultivos de maíz (*Zea mays L.*) son cultivos básicos para distintas poblaciones a nivel mundial ya que se este cereal constituye a una de las principales fuentes de alimento para las personas ya que tienen la planta cuenta con la cualidad de poder ser utilizada como alimento en cualquier etapa de desarrollo, siendo este cereal el único en esta categoría.

### **1.3.1 Producción**

La producción de maíz se divide en dos: blanco y amarillo, siendo el maíz blanco el que tiene cuenta con una mayor producción y que se destina principalmente para el consumo humano, mientras que el maíz amarillo es destino a la destinado a la industria y la fabricación de alimentos balanceados de la industria pecuaria (SAGARPA, 2016).

#### *1.3.1.1 Mundial*

A nivel mundial la producción de maíz es de 1,250,235,135 de toneladas anualmente siendo los principales países en su producción Estados Unidos, China, Brasil, Argentina, Ucrania, India, México, Indonesia, Sudáfrica y Francia (FAOSTAT, 2021).

#### *1.3.1.2 México*

México es considerado cuna de la biodiversidad del maíz al contener el 29% de las variedades de maíz en América Latina, siendo el maíz un cultivo con gran relevancia en el país en diversos ámbitos como parte importante de la agricultura campesina, los económicos, los sociales y los culturales, además de ser parte importante de la gastronomía teniendo un consumo *per cápita* anual de 346.4 kg (SAGARPA, 2016; Sánchez Ortega, 2014; Govaerts *et al.*, 2019; SIAP, 2022).

Durante el 2021 se destinaron 597,543 ha al cultivo de maíz forrajero teniendo una producción de 17 millones 250 mil toneladas, mientras que para la siembra de maíz de grano durante ese mismo año se destinaron 7 millones 310 mil ha, teniendo una producción de 27 millones 503 mil toneladas (SIAP, 2022).

### *1.3.1.3 Aguascalientes*

El estado de Aguascalientes ocupa el 4° lugar a nivel nacional en la producción de maíz forrajero, ya que este cultivo es básico para las unidades de producción lechera (UPL) (INIFAP, 2010; SIAP, 2022), por lo que se destinan 59,661 ha para la siembra de maíz forrajero y se obtiene una producción anual de 1'384,789.22 toneladas (SIAP, 2021).

### **1.3.2 Usos**

El maíz se destina como alimento, elaboración de forrajes y como materia prima para la industria (FAO, 1993). Como material para la elaboración de forrajes la planta del maíz forrajero es utilizada para su totalidad, pudiendo ser utilizado para su venta en seco, en pacas, molido o para ser ensilado (SIAP, 2022). Siendo este último muy utilizado para alimentar al ganado en las UPL por su alto rendimiento, alto contenido energético y por reducir costos de alimentación (Peña *et al.*, 2010).

### **1.3.3 Manejo**

El manejo agronómico que se le da en campo a las semillas determina la calidad de la planta además de su rendimiento, por lo que es importante implementar técnicas de GAPs (Peña *et al.*, 2010; MacRobert *et al.*, 2014).

El manejo agronómico se puede dividir en tres etapas: manejo durante el establecimiento, manejo durante la etapa vegetativa y el manejo durante la etapa reproductiva (Tabla 5) (MacRobert *et al.*, 2014).

Tabla 5 Tipos de manejos en los cultivos de maíz.

TIPO DE MANEJO	ACTIVIDADES
Manejo durante el establecimiento	Preparación del suelo, acondicionamiento del suelo (aplicación de N, P y K), tratamientos de semilla, cálculo de densidad de siembra, aplicación preventiva de herbicida, deshierbe manual y riego de establecimiento
Manejo durante la etapa vegetativa	Abonado en cobertura con fertilizante nitrogenado, aplicación de emergencia de herbicidas, deshierbe manual, búsqueda y control de plagas y enfermedades.
Manejo durante la etapa reproductiva	Riego, abono en cobertura con fertilizante nitrogenado, aplicación de emergencia de herbicidas, deshierbe manual para controlar malezas tardías, control de plagas y enfermedades.

NOTA: Tabla modificada de Manual de producción de semilla de maíz híbrido (MacRobert *et al.*, 2015)

#### 1.3.4. Genética

El genotipo de las plantas de maíz tiene repercusión en el desarrollo de estas, haciendo que existan variedades más susceptibles a condiciones ambientales, enfermedades, microorganismos y plagas que otras, lo que puede afectar en la calidad e inocuidad del grano y a su vez repercutir en el sector económico, por lo que el mejoramiento genético busca producir semillas con mejores cualidades (Franco Martínez *et al.*, 2015).

Las semillas criollas de maíz son aquellas semillas que han pasado por un proceso de selección artificial dirigida por los agricultores a través de las generaciones, por lo que tienen una alta diversidad en la que la conservan una identidad única y carecen de mejoras formales en los cultivos (Cowan, 2019).

Las semillas híbridas del maíz cuentan con un genotipo único que le pueden otorgar a la planta características deseables como mejor apariencia, aumento de la calidad de la planta, resistencia a enfermedades y a condiciones adversas (Franco Martínez *et al.*, 2015).

#### 1.3.5. Sistema de producción

Los sistemas de producción son un conjunto de técnica, insumos, trabajadores, propiedades del suelo y organización que producen bienes y servicios en el área agrícola, viéndose afectados por ámbitos tecnológicos, económicos y políticos (UG, 2017). Existen ocho categorías de clasificación de los sistemas de producción agrícola que se basan en el potencial

que tienen para el crecimiento agrícola y en la importancia demográfica y en la disponibilidad de recursos bióticos y abióticos (UG, 2017).

El maíz se produce utilizando los sistemas de producción temporal y de riego (Govaerts *et al.*, 2019). El primero dependiendo totalmente de la lluvia y de la capacidad del suelo de captar el agua y conservar la humedad, teniendo la ventaja de reducir costos de producción (SADER, 2016). Y el sistema de riego consta del aprovechamiento del agua de acuerdo con las necesidades del cultivo (SADER, 2018). En Aguascalientes el 35.7% de la producción agrícola se realiza bajo la modalidad de riego y el 64.3% restante es de temporal (SADER, 2020).

El establecimiento de *A. flavus* y la producción de AF está influenciada por el estrés ambiental al que se ve sometida la planta durante su ciclo de vida (Armijo y Calderón, 2009). Este estrés puede ocurrir en cualquier punto de la producción del maíz, por lo que las prácticas agronómicas como lo son las actividades de precosecha, de cosecha y de almacenamiento pueden propiciar la presencia hongos toxigénicos y de sus micotoxinas (Hernández-Delgado *et al.*, 2007; Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 2012).

El manejo de los cultivos que se da desde la precosecha hasta el almacenamiento es bastante importante para minimizar la contaminación por hongos del género *Aspergillus* y sus micotoxinas, dado que durante la vida en campo del maíz está en constante contacto con los factores ambientales y con insectos que pueden dañarlos a la vez que son vectores de las esporas (Martínez Padrón *et al.*, 2013; Carrillo, 2003).

De igual manera durante el almacenamiento la contaminación y producción de AF se ve favorecida por malas condiciones de resguardo, haciendo que sea durante este paso en donde la producción de AF incremente más que en campo, aun considerando que la contaminación previa se seguirá acumulando en el mismo grano de maíz (Martínez Padrón *et al.*, 2013).

### **1.3.6. Época del año**

En México las épocas del año en los ciclos agroecológicos se dividen en: siembra primavera-verano, cosecha primavera-verano, siembra de otoño-verano y cosecha otoño-invierno (Figura 1).

2021			2022											
Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sept	Oct	Nov	Dic
						Siembra primavera-verano								
Cosecha primavera-verano												Cosecha primavera-verano		
Siembra otoño-invierno												Siembra otoño-invierno		
						Cosecha otoño-invierno								

Figura 1 Periodos de siembra y cosecha de maíz en México.  
 NOTA: Figura modificada de la Encuesta Nacional Agropecuaria: 2019 (INEGI, 2019).

### 1.3.7. Plagas y enfermedades

La presencia de *Aspergillus* y de otros hongos toxigénicos se ha visto relacionada con la presencia de plagas de insectos, que atacan a los cultivos dañándolos (Martínez Miranda *et al.*, 2013). Además, los insectos fungen como vectores de transmisión de los hongos productores de AF (Carrillo, 2003).

## 1.4 FACTORES

Dependiendo de las ciertas condiciones o factores que se encuentran en los agroecosistemas la proliferación y posterior producción de AF va a variar, estos factores que intervienen en la persistencia tanto del hongo como de las micotoxinas se deben a sus interacciones (Jallow *et al.*, 2021).

Dentro de cada agrosistema los eventos e interacciones son particulares, y van desde lo ambiental (temperatura, humedad, los periodos de lluvia) hasta lo socioeconómico (tamaño de la producción, uso de tecnologías, GAPs) llegando a tener efectos sobre la productividad, estabilidad y resistencia para así hablar de una eficacia biológica (Altieri, 2009; Jallow *et al.*, 2021). Por lo que los factores bióticos y abióticos pueden intervenir en la calidad e inocuidad de los granos y de las semillas de maíz (Barroyeta *et al.*, 2013).

### 1.4.1 Bióticos

Los factores bióticos son aquellos que incluyen a la misma planta como a los otros organismos que se encuentran en el mismo agroecosistema. En el primer caso las cualidades

propias de la planta la pueden hacer resistente a los diferentes estímulos de estrés del entorno (clima, estrés hídrico, competencia, plagas) (Jallow *et al.*, 2021).

La interacción de factores bióticos como la del hongo con el maíz pueden propiciar el establecimiento del género *Aspergillus*, por otro lado, competencia del hongo por espacio, nutrientes y sustrato con otros microorganismos pueden tener un efecto antagonista en el crecimiento de este. (Martínez Padrón *et al.*, 2013).

#### **1.4.2 Climáticos**

Factores como la temperatura, disponibilidad de agua y patrones de lluvia, impactan en la calidad de los productos agrícola, haciendo que las plantas queden vulnerables ante insectos, plagas y enfermedades (Hernández-Delgado *et al.*, 2007; Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 2012; Barroyeta *et al.*, 2013).

Además, son estos mismos factores climáticos a los que se les ha relacionado con la proliferación y de los hongos productores de micotoxinas, y no siempre son las mismas en un mismo país (Jallow *et al.*, 2021). Las regiones con climas tropicales son los que presentan mayores niveles de contaminación de hongos micotoxigénicos en los cultivos y alimentos derivados, se ha propuesto que los cambios climáticos a nivel global están impactando en el incremento de los niveles de AF en los cultivos y en los alimentos (Jallow *et al.*, 2021).

## CAPITULO 2: JUSTIFICACIÓN

Este proyecto, aporta conocimientos para el área de la Toxicología, la cual será la base para realizar una evaluación sobre la influencia de los factores biológicos y ambientales en la permanencia de *Aspergillus flavus* en el Estado de Aguascalientes, además muestra información útil referida a los ciclos agrícolas consecutivos en UPLs de Aguascalientes, esto se logrará caracterizando, identificando cuantificando aquellas toxinas producidas por los hongos presentes en suelos y en el ensilado de maíz conllevando a producir alimentos de calidad indeseable dando como resultado de su consumo, problemas de salud pública los cuales suelen ser de gravedad.

Además, la evaluación que asocia los factores físicos, biológicos y ambientales que participan en los suelos empleados para el cultivo de maíz otorgará información sobre lo que sucede dentro de los agro sistemas cambios a lo largo de los ciclos agroecológicos lo cual justificará como es que estos factores influyen en la permanencia de *Aspergillus flavus* en el Estado de Aguascalientes para poder desarrollar estrategias de acción específicas y adecuadas que puedan mitigar los daños ocasionados por este moho toxigénico en los cultivos de maíz, caracterizando rasgos agrícolas y ambientales, y así permitir la producción de alimentos de mejor calidad.

Se considera que el proyecto de investigación va acorde al objetivo número dos del Programa Nacional estratégico del CONACyT el cual se enfoca a lograr la soberanía alimentaria de México.



## CAPITULO 3: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### 3.1. HIPÓTESIS

La presencia de *Aspergillus flavus* persiste durante los ciclos agroecológicos consecutivos del maíz a pesar de los factores agrícolas y ambientales, lo que permite su establecimiento y producción de aflatoxinas.

### 3.2. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la influencia de los factores biológicos y ambientales en la permanencia de *Aspergillus flavus* en el Estado de Aguascalientes.

### 3.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

#### 3.3.1. Muestreo de suelo y ensilaje de maíz

Realizar un muestreo de suelo y ensilaje de maíz durante dos ciclos agrícolas consecutivos en unidades de producción lechera en el valle de Aguascalientes y caracterizar sus rasgos agrícolas y ambientales.

#### 3.3.2. Aislamiento e identificación de hongos toxigénicos

Aislar e identificar hongos toxigénicos presentes en suelos empleados para cultivos de maíz en el Estado de Aguascalientes y en el ensilado de maíz obtenido de esos sitios.

#### 3.3.3. Identificación y cuantificación de micotoxinas

Identificar y cuantificar toxinas producidas por los hongos presentes en suelos y en el ensilado de maíz.

#### 3.3.4. Evaluación de factores participantes

Evaluar la asociación de los factores físicos, biológicos y ambientales que participan en los suelos empleados para el cultivo de maíz.

## CAPITULO 4: MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. DISEÑO GENERAL DEL ESTUDIO

Se muestrearon 10 unidades de producción lechera (UPL) distribuidas en el Estado de Aguascalientes (Figura 2). Se realizaron tres visitas a cada una de las UPL distribuidas a lo largo de dos ciclos agroecológicos consecutivos. Las muestras de cada uno de los periodos fueron etiquetado e identificado correctamente de acuerdo con el tipo de muestra, periodo de colecta y UPL de procedencia.

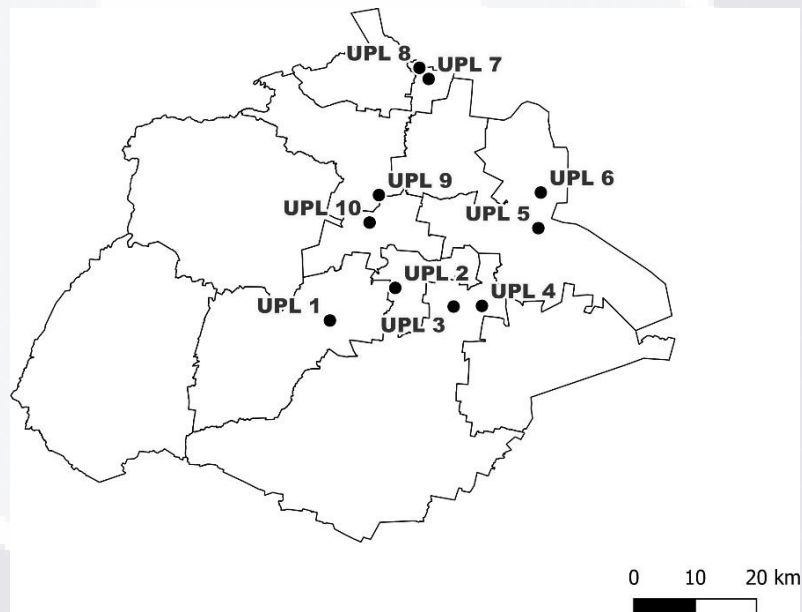


Figura 2 Mapa de la ubicación de las Unidades de Producción Lechera (UPL) que participaron en el estudio

*NOTA: Mapa modificado de la página de Límites Intermunicipales Oficiales de la secretaria de Gestión Urbanística, Ordenamiento Territorial, Registral y Catastral (<https://www.aguascalientes.gob.mx/SEGUOT/catastro/LimitesIntermunicipales.html>)*

La primera toma de muestras se realizó en octubre de 2021, que corresponde a la cosecha primavera-verano de ese año, y se tomaron muestras de suelo agrícola. La segunda fue en enero de 2022, se colectaron muestras de ensilaje de maíz recién abierto y que fue elaborado con el maíz cosechado durante el ciclo agroecológico primavera-verano 2021. Y la tercera

visita se realizó en marzo de 2022 correspondiente al nuevo ciclo agroecológico primavera-verano 2022, donde se colectaron muestras tanto de suelo agrícola como de ensilaje de maíz con 3 meses de almacenado (Figura 3).

2021			2022														
Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sept	Oct	Nov	Dic			
Cosecha primavera-verano																	
Muestreo		Muestreo															
						Siembra primavera-verano											
						Muestreo											

Figura 3 Calendario de muestreos en UPL participantes de acuerdo con el ciclo agroecológico

#### 4.2 MUESTREO DE SUELO Y ENSILAJE DE MAÍZ

Se realizaron dos muestreos para suelo agrícola durante los meses de octubre de 2021 y marzo 2022, siguiendo y adoptando las técnicas descritas en la NOM-021-RECNAT-2000 y en la NMX-AA-132-SCFI-2006. Para la toma de muestras se realizó un muestreo en zigzag o también llamado técnica de “M” (Figura 4), la cual consiste en trazar una M imaginaria sobre la parcela, sobre la cual se procedió a recolectar las muestras sobre cada uno de los puntos de esta.

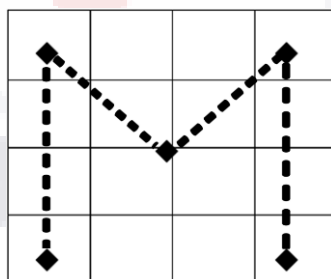


Figura 4 Esquema de representación de la técnica de muestreo en forma de “M”. Cada vértice representa un punto de muestreo

NOTA: Figura extraída de NMX-AA-132-SCFI-2006.

Para esto se utilizó un sacabocado con el que se perforó a 30 cm de profundidad del suelo para obtener una submuestra de 100 g aproximadamente, este procedimiento se repitió cinco veces por punto. Las submuestras se resguardaron en bolsas, debidamente identificadas y se transportaron en hielera al Laboratorio de Investigación del Centro de Ciencias

Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA) donde fueron procesadas y resguardadas hasta su utilización.

En el caso del ensilaje de maíz el muestreo se realizó durante los meses de enero y marzo de 2022, siguiendo y adoptando la técnica descrita en la NOM-188-SSA1-2002, para la toma de muestras utilizando la técnica de “M”, la cual consistió en imaginar una M sobre el silo abierto y sobre cada uno de los picos de esta designarlos como un punto de recolección de muestra. Una vez seleccionado el punto de muestreo, se procedió a descartar los primeros 20 cm aproximadamente del ensilaje que estuvo en contacto con el ambiente y a partir de ahí se realizó la toma de la submuestra de 200 g aproximadamente por punto con lo que obtuvo una muestra compuesta de un kilogramo que se depositó en una bolsa debidamente identificada y se transportó en una hielera al Laboratorio de Investigación del Centro de Ciencias Agropecuarias de la UAA donde fueron procesadas y resguardadas hasta su utilización.

#### **4.3. IDENTIFICACIÓN DE HONGOS TOXIGÉNICOS**

En una balanza se pesaron 10 g de muestra molida, que se depositaron en matraces de 250 mL a los que se les agregó 90 mL peptona de caseína al 0.1%, luego se agitaron por 30 minutos y se prepararon cuatro diluciones por muestra ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ ). Dentro de una campana de flujo laminar previamente esterilizada con alcohol al 70% y que se dejó reposar en luz UV por lo menos 20 minutos, se tomaron de cada una de las diluciones 200  $\mu$ L con una micropipeta para ser sembrado en cajas de Petri con medio de cultivo de rosa de bengala (RBA) (ANEXO A) y se incubaron en oscuridad de 27-30°C por 7 días con supervisión diaria (ANEXO B). Una vez transcurrido el tiempo de incubación se registraron las características macroscópicas y el número de colonias presentes por dilución.

Posteriormente se realizaron laminillas con la técnica de azul de algodón lactofenol, para esto se tomaba una porción de la colonia de interés, se depositaba y se espacia en una gota de azul-lactofenol previamente colocada en el centro de un portaobjetos estéril y se cubría con un cubreobjetos.

Se utilizó un microscopio óptico (Carl Zeiss, Axiostar plus, EUA) para observar estructuras morfológicas microscópicas a distintos aumentos y se identificaron los hongos a nivel género en base a las descripciones de Barnett y Hunter (1998).

#### **4.4. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MICOTOXINAS**

La cuantificación de micotoxinas en las muestras de ensilaje de maíz se realizó con kits comerciales de ELISA competitivo (RIDASCREEN®). La extracción se realizó de acuerdo con las indicaciones del proveedor y de acuerdo con la micotoxina a identificar (ANEXO C) cada muestra se trabajó por duplicado en pocillos de la microplaca y se leyeron en un lector de microplacas (Biotek ELx800TM, Bio Tek, EUA). Se obtuvo una curva patrón con estándares purificados de cada una de las micotoxinas que se incluía en los kits comerciales (ANEXO B) y con el cual se logró cuantificar la cantidad de micotoxinas por muestra utilizando el programa RIDASOFT® Win.NET.

#### **4.5. EVALUACIÓN DE FACTORES PARTICIPANTES**

Se obtuvieron datos ambientales de estaciones meteorológicas cercanas a las unidades de producción lechera, las cuales eran pertenecientes al INIFAP a través de la página Laboratorio Nacional de Modelaje y Sensores remotos (<https://clima.inifap.gob.mx/lnmysr/Estaciones/Mapa>). Los datos de temperatura, humedad relativa y precipitación fueron vaciados en una hoja de EXCEL para su posterior análisis en el programa estadístico R-Studio 4.2.1 y en GraphPad Prisma 9.

## CAPITULO 5: RESULTADOS

### 5.1. IDENTIFICACIÓN DE HONGOS TOXIGÉNICOS

En las muestras de suelo agrícola pertenecientes al final del ciclo agroecológico 2021 se registró el conteo de una o varias colonias fúngicas en el 100% de las muestras, con un total de 134 colonias fúngicas de diferentes géneros, los cuales fueron: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Rhizopus* y *Mucor* (58.2, 35.1, 3.7, 2.2 y 0.7%, respectivamente) (Figura 5). Para las muestras de suelo agrícola correspondientes al inicio del ciclo agroecológico 2022 se registró el crecimiento de una o varias colonias fúngicas en el 100% de las muestras con un total de 182 colonias de los géneros: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Eurotium*, *Rhizopus*, *Cladosporium* y *Trichoderma* (66.5, 18.7, 7.7, 3.3, 2.7 y 1.1 %, respectivamente) (Figura 4).

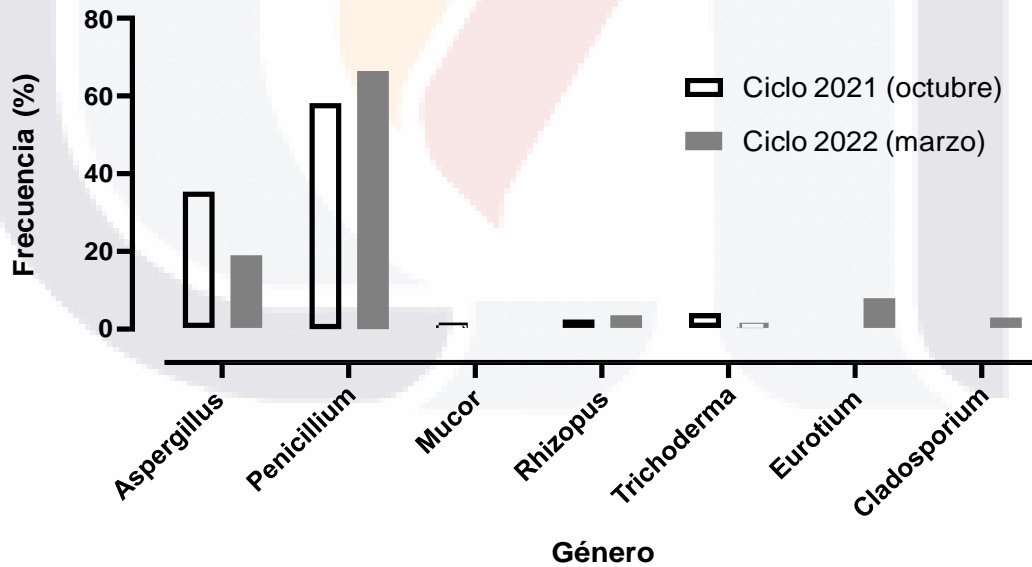


Figura 5 Frecuencia de géneros fúngicos en suelo agrícola de 10 unidades de producción lechera al final del ciclo agroecológico 2021 y al inicio del ciclo 2022 (porcentaje de aislados en cada ciclo: 134 y 182).

En las muestras de ensilaje de maíz correspondiente al ciclo agroecológico 2021 y utilizado a partir del primer mes de 2022 se registró el crecimiento de una o varias colonias fúngicas en el 50% de las muestras con un total de 8 colonias de diferentes géneros, los cuales fueron: *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus* y *Rhizopus* (50.0, 25.0, 12.5 y 12.5 %, respectivamente) (Figura 6). Para las muestras de ensilaje de maíz del mismo periodo, pero con un almacenamiento de tres meses se registró el crecimiento de una o varias colonias fúngicas en el 80% de las muestras con un total de 44 colonias de los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Candida* y *Mucor* (6.8%, 81.8, 4.5, 4.5 y 2.3 %) (Figura 6).

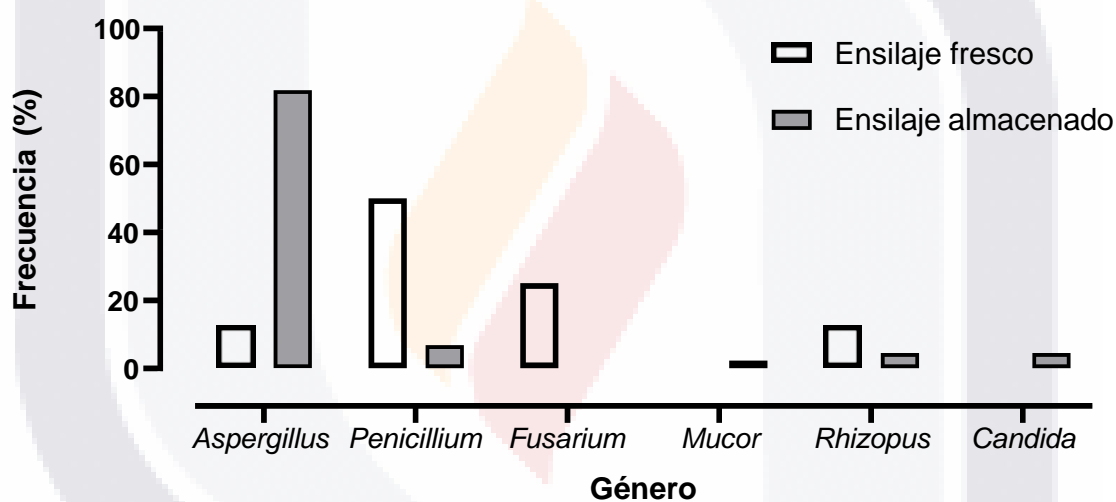





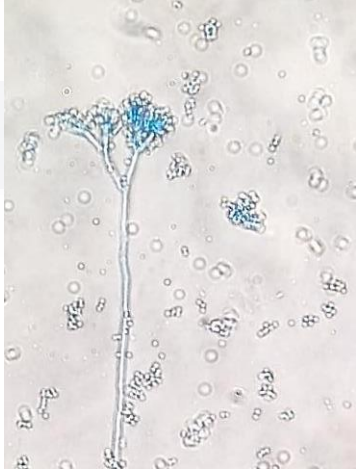


Figura 6 Frecuencia de géneros fúngicos en ensilaje de maíz fresco (ciclo 2021) y ensilaje de maíz con tres meses de almacenamiento en 10 unidades de producción lechera ubicadas en el Valle de Aguascalientes.

Se identificaron tres géneros fúngicos toxigénicos: *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*. (Tabla 6).

Tabla 6 Características macroscópicas y microscópicas de hongos toxigénicos encontrados en las muestras de suelo agrícola y de ensilaje de maíz

Características macro	Características micro (40x)	Identificación
		<i>Aspergillus</i>
		<i>Fusarium</i>
		<i>Penicillium</i>



## 5.2. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MICOTOXINAS

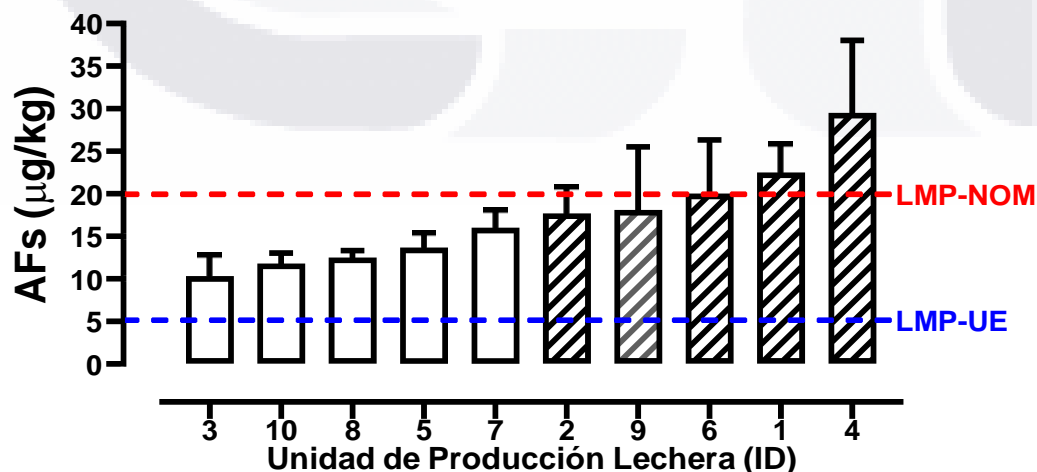
Se identificaron y cuantificaron cinco micotoxinas en las muestras de ensilaje de maíz de ambos tiempos de almacenaje (Tabla 7).

Tabla 7 Identificación y cuantificación de micotoxinas en muestras de ensilaje de maíz

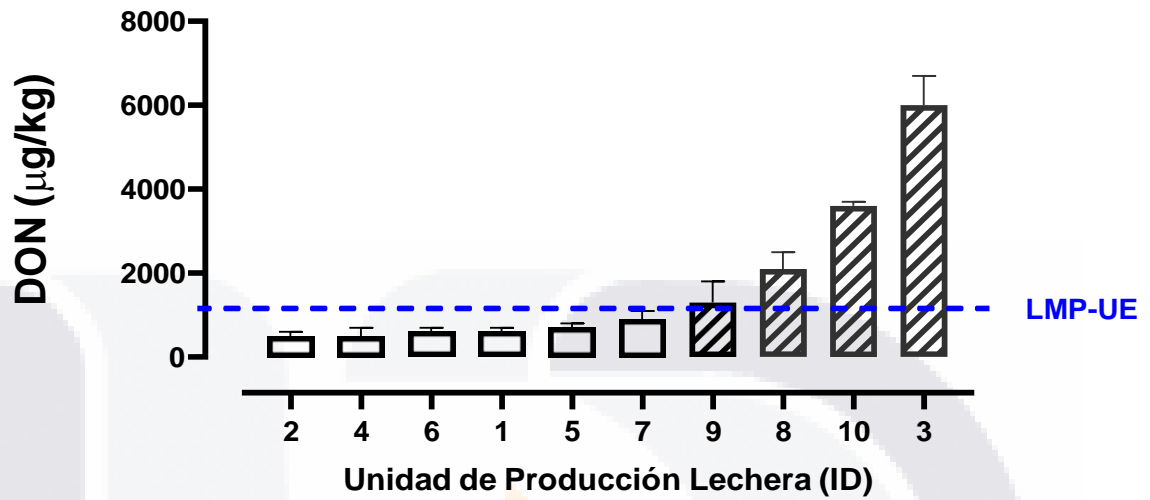
MICOTOXINA	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (meses)	Concentración ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	LMP (CA)	LMP (UE)	Muestras superiores al LMP (UE) (%)
Aflatoxinas totales	0	$23.2 \pm 10.1$	20.0	5	100
	3	$11.2 \pm 3.9$	20.0	5	90
Deoxinivalenol	0	$1,402 \pm 1165$	-	1,250	0
	3	$1,735 \pm 1,507.4$	-	1,250	0
Fumonisina	0	$1,790.5 \pm 216 \pm 340.8$	-	4,000	0
	3	$13.6 \pm 8.6$	-	4,000	0
Ocratoxina A	0	$6.1 \pm 3.6$	-	5	50
	3	$13.6 \pm 8.6$	-	5	80
Zearalenona	0	$592.05 \pm 245.6$	-	1,750	0
	3	$628.5 \pm 375.8$	-	1,750	0

Se encontraron UPL en las que sus muestras de ensilaje de maíz superaron en promedio los LMP establecido por las normas oficiales mexicanas y las directivas de la UE (Figura 7).

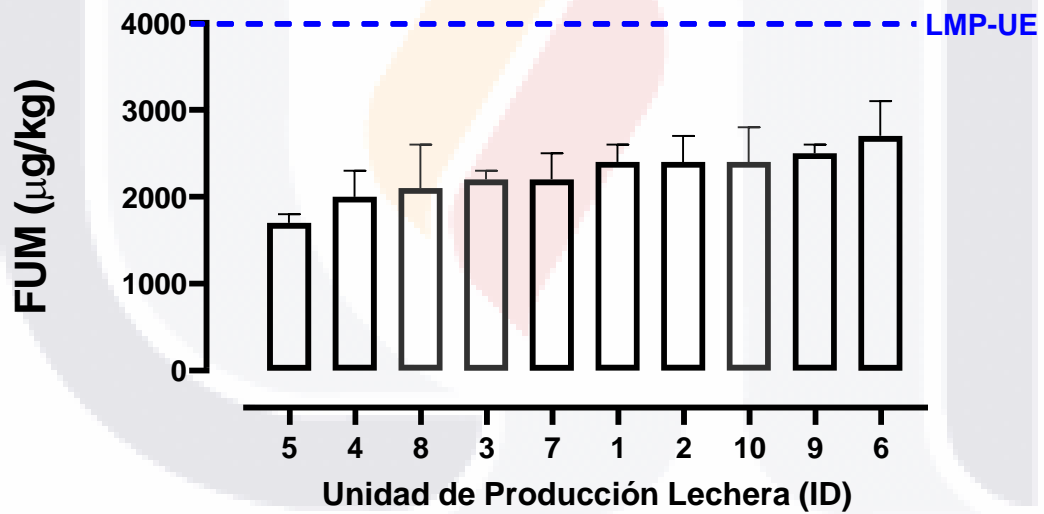
A)



Cont.  
B)

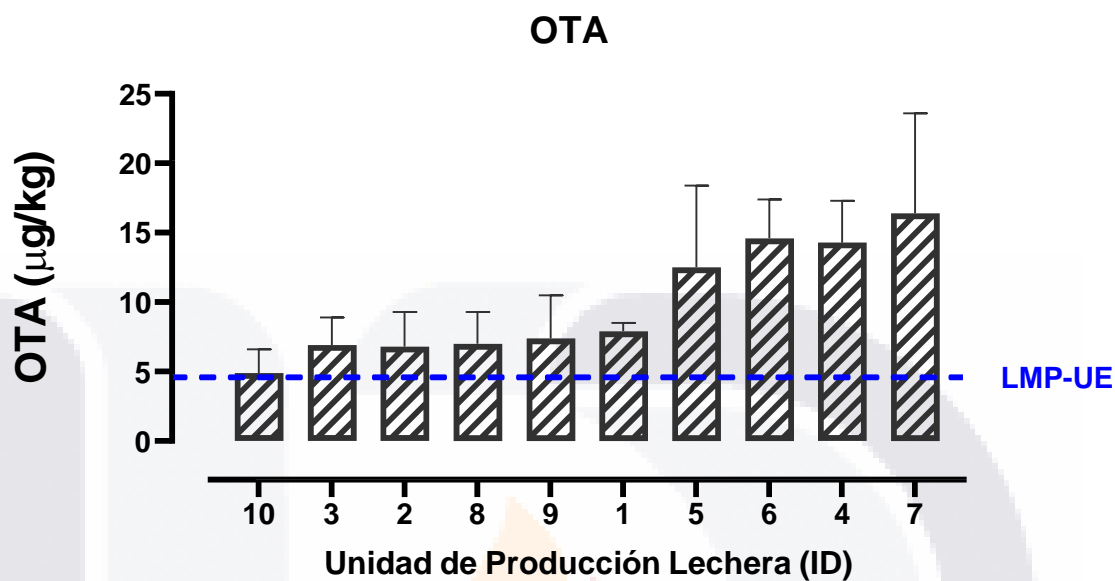


C)



Cont.

D)



E)

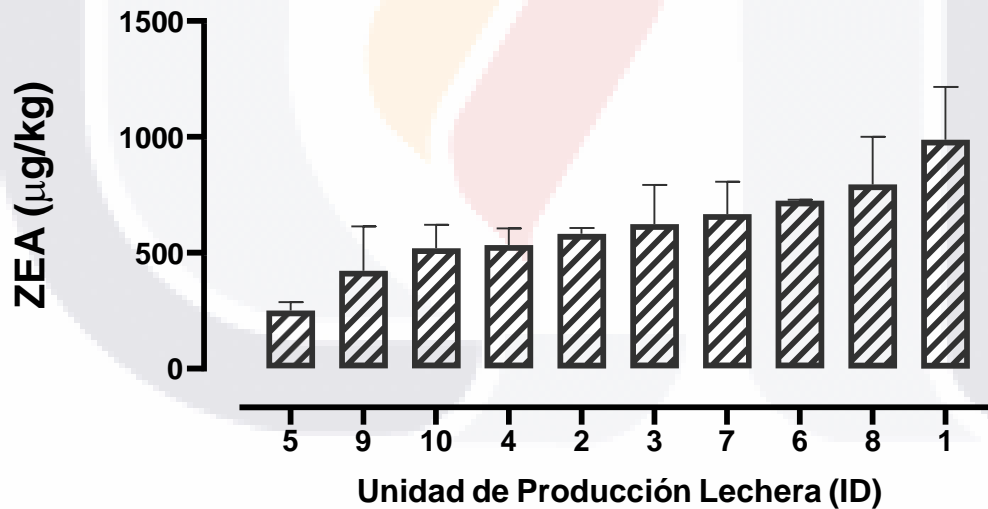


Figura 7 Cuantificación de micotoxinas de ensilaje de maíz de las UPL y su relación con los LMP de la NOM y las directivas de la UE. A) Aflatoxinas totales (AFs) B) Deoxinivalenol (DON) C) Fumonisina (FUM) D) Ocratoxina A (OTA) E) Zearalenona (ZEA)

### 5.3. EVALUACIÓN DE FACTORES PARTICIPANTES

Con la prueba de chi cuadrada se obtuvo que existe una diferencia significativa de la frecuencia de géneros fúngicos con el tipo de muestra ( $p \leq 0.05$ ). Con la misma prueba se obtuvo que existe una diferencia significativa de la frecuencia de géneros fúngicos con relación al tiempo de almacenamiento del ensilaje de maíz ( $p \leq 0.05$ ).

Se evaluaron los factores ambientales de temperatura, precipitación y humedad relativa (HR). De acuerdo con el análisis la precipitación no tiene diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). Mientras que los factores de temperatura y HR fueron significativos ( $p \leq 0.05$ ) a la cantidad de AF en las muestras de ensilaje de maíz (Tabla 8).

Tabla 8 Comparación de medias de los factores con relación a AF

<b>MICOTOXINA</b>	<b>FACTOR AMBIENTAL</b>	<b>VALOR-P</b>
Aflatoxinas totales	Temperatura	0.0414
	Precipitación	0.0593
	Humedad relativa	0.0111

Con la prueba de Tukey se obtuvo que las interacciones temperatura vs precipitación, temperatura vs HR y HR vs precipitación son estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ). Se demostró a través de una correlación de Pearson que el incremento tanto de la HR como de la temperatura están relacionados con cantidades altas de AF en el ensilaje de maíz.

## CAPITULO 6: DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 6.1. IDENTIFICACIÓN DE HONGOS TOXIGÉNICOS

Los tipos de muestras fueron estadísticamente diferentes, siendo las muestras de suelo agrícola en las que se presentó una mayor cantidad de colonias fúngicas, esto debido a las condiciones anaeróbicas en las que se elabora el ensilaje de maíz, evitando de esta manera el establecimiento de los hongos y su pudrición (Espinoza Guerra *et al.*, 2015).

De los hongos toxigénicos identificados en los dos tipos de muestras fueron *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, hongos habitantes del suelo y que pueden generar problemas en los campos de cultivo (Serrano-Colli y Cardona-Castro, 2015).

En las muestras de suelo agrícola las frecuencias de las colonias fúngicas fueron significativamente diferente entre el cierre del ciclo agroecológico 2021 y el inicio del ciclo agroecológico 2022, siendo el periodo de inicio el que conto con una mayor cantidad de colonias fúngicas. Para el caso de la frecuencia de las colonias fúngicas en las muestras de ensilaje de maíz se encontró que de igual manera existe una diferencia significativa con respecto al tiempo de almacenamiento, siendo el ensilaje de maíz con tres meses de almacenado el que conto con un recuento mayor de colonias, por lo que las condiciones anaeróbicas cambiaron durante el almacenamiento.

El género fúngico que más se presentó fue *Penicillium* en ambos tipos de muestra, pero la frecuencia de *Aspergillus* incremento en las muestras de ensilaje de maíz con tres meses de almacenamiento, esto dado posiblemente a un inadecuado manejo de los silos en el que el ensilaje quedaba expuesto a la condiciones ambientales y a las esporas del hongo, que se esparcen cuando se remueve la tierra (García-Vidal y Salavert Lletí, 2014), caso que se da en el inicio del ciclo al hacer la preparación de los suelos de cultivo.

### 6.2. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MICOTOXINAS

La técnica utilizada para la identificación y cuantificación de las micotoxinas fue a través de la técnica de ELISA competitivo, la cual permite un cribado preciso y delato rendimiento dada su característica de poner obtener varias muestras en poco tiempo y así reducir riesgos por contaminación además de abaratar costos, y es que comparada con otros métodos como el HPLC la diferencia que existe es mínima (Rosi *et al.*, 2007)

Se identificaron cinco micotoxinas en las muestras de ensilaje de maíz de las 10 UPL, por lo que la presencia de los hongos toxigénicos estuvieron presentes en cierto punto del proceso (Sanabria, Martínez y López, 2017).

En las muestras de ensilaje de maíz con tres meses de almacenamiento tuvieron una cuantificación mayor de las micotoxinas en las que se obtuvo un promedio mayor a las sugerencias establecidas por la NOM, en el caso de las AF, ni por la directiva de la UE para DON, FUM, OTA y ZEA. Por lo que se obtiene un ensilaje de maíz que no es recomendable dar al ganado, por los riesgos a la salud que implica su consumo (Gómez Ayala, 2007).

Dada la falta la regulación de micotoxinas en el alimento y en la materia prima en México, salvo para las AF, se utiliza como referencia la normativa de otros países.

### **6.3. EVALUACIÓN DE FACTORES PARTICIPANTES**

En el análisis de la evaluación de los factores ambientales se obtuvo el que los factores de HR y temperatura estaban altamente relacionados al incremento de las AF en el ensilaje de maíz, si estos factores crecían de igual manera lo haría la cantidad de AF y es que la interacción del hongo con su entorno se vuelve fundamental para la producción de esta micotoxina (Martínez Padrón *et al.*, 2013). Se ha observado que las cargas del hongo *Aspergillus* son altas en relación con una alta HR ambiental y con las variaciones de la temperatura (Fon-Fay Vásquez, Barzola Miranda y Moran Bajaña, 2016).

## CAPITULO 7: CONCLUSIONES

La presencia de los hongos del género *Aspergillus* persiste a través de los ciclos agroecológicos a pesar de las interacciones bióticas y abióticas que ocurren dentro de las UPL. Se encontraron en las muestras de suelo agrícola y de ensilaje de maíz hongos toxigénicos de los *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, y sus respectivas micotoxinas en las muestras de ensilaje de maíz, cuya contaminación incrementó en aquellas muestras que tuvieron un mayor tiempo de almacenaje. Es importante recalcar que se detectó que existe una problemática entorno a la contaminación no solo de las AF, sino también con DON, OTA y ZEA, ya que se encontraron UPL que mantuvieron en promedio por arriba de los LMP establecidas por las directivas de la UE.

En cuestión de los factores que intervienen en el establecimiento y producción de las AF, se determinó las condiciones de temperatura y HR presentes durante la época de siembra primavera-verano son propicias para la contaminación en el maíz aunado a una praxis para el almacenamiento del ensilaje.

## GLOSARIO

**Aflatoxigénicos:** Capacidad del género y especie fúngica llamada “*Aspergillus flavus*”, para producir toxinas

**Aglutinantes:** Sustancias que permiten adhesión de elementos provenientes de una misma mezcla.

**Aspergillus:** Genero fúngico cuyos representantes son llamados hongos filamentosos.

**Aspergiloma:** Enfermedad provocada por *Aspergillus*, ubicándose únicamente en el Sistema Respiratorio.

**Basipétalo:** La producción de las esporas se da en la base.

**Célula del pie:** Hifa que se encuentra en la base del conidióforo.

**Colonia fúngica:** crecimiento del hongo.

**Conidióforo:** Estructura especializada en reproducción asexual que produce esporas que reciben el nombre de conidios.

**Conidio (pl. conidia):** Espora de reproducción asexual que se produce en los conidióforos.

**Entrenudo:** Parte del tallo de la planta que se encuentra entre dos nudos consecutivos.

**Espádice:** Inflorescencia en forma de espiga, con eje carnoso.

**Espora:** forma de reproducción sexual o asexual.

**Estúpite:** Estructura de soporte que puede fungir como tallo en la planta.

**Ensilaje:** Producto resultante del proceso de ensilado que está destinado a la alimentación del ganado.

**Espigón:** Sinónimo de mazorca.

**Fenotipo:** Características o rasgos observables: morfológicos, funcionales o metabólicos.

**Fialide:** Conidióforo con reproducción asexual.

**Hialino:** Transparente.

**Hifa:** unidad estructural de los hongos que se origina a partir de las esporas.

**Humus:** Centrándose en el campo, es la acción combinada de la descomposición de animales, plantas y microorganismos presentes en la capa más superficial del suelo.

**Inflorescencia:** Ramas de tallo con crecimiento limitado donde se insertan las flores.

**Métula:** Ramificación estéril debajo de las fiálides.

**Micelio:** Conjunto de hifas vegetativas.



**Micotoxina (s):** metabolito secundario producido por algunos hongos que pueden ser dañinos para la salud humano y/o animal.

**Septo:** Pared celular interna que divide a la hifa en células.

**Sinema:** Conjunto de filamentos sin esporas.

**Persistencia:** Existencia de una cosa por largo tiempo.

**Vesícula:** Parte dilatada de una hifa, parte final de un conidióforo.



## REFERENCIAS

- Abarca, M. L. (2000). Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17(3), S79-S84.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology* (5th ed.). Academic Press.
- Altieri, M. A. (2009). El estado del arte de la agroecología: revisando avances y desafíos. In M. Altieri (Ed.), *Vertientes del pensamiento agroecológico: fundamentos y aplicaciones* (pp. 69–94). SOCLA: Sociedad Científica Latinoamericana de Agroecología.
- Álvarez Días, M. F. (2021). Factores asociados a la contaminación del alimento de vacas lecheras por *Aspergillus flavus* Link aflatoxigénico y aflatoxinas en el altiplano central mexicano. [Tesis de maestría]. Universidad Autónoma de Aguascalientes.
- Amaike, S. y Keller, N. P. (2011). *Aspergillus flavus*. *The Annual Review of Phytopathology*, 49, 107–133.
- Arenas Guzmán, R., y Torres Guerrero, E. (2019). *Micología medica ilustrada* (6th ed.). Mc Graw Hill.
- Armijo, J. y Calderón, J. (2009). Esquema de acciones para evitar, controlar y desinfectar productos de hongos y aflatoxinas. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 12(2), 15-24.
- Awuchi, C. G., Ondari, E. N., Nwozo, S., Odongo, G. A., Eseoghene, I. J., Twinomuhwezi, H., ... & Okpala, C. O. R. (2022). Mycotoxins' toxicological mechanisms involving humans, livestock and their associated health concerns: A review. *Toxins*, 14(3), 167.
- Barroyeta, J., Chavarri, M., Rumbos, N., Garrido, M.J. y Mazzani, C. (2013). Micobiota toxigénica y aflatoxinas en granos de maíz blanco provenientes de los estados Yaracuy y Guárico, Venezuela. *Fitopatología Venezolana*, 26(1), 2-6.
- Bautista, F., Zinck, A. J., y Cram, S. (2009). Los Suelos de Latinoamérica: retos y oportunidades de uso y estudio. *Instituto Nacional de Estadística y Geografía, Boletín* 2(3), 93–142.
- Bernnett, H. L., y Hunter, B. B. (1998). *Illustrated genera of imperfect fungi*. McMillan.
- Bogantes-Ledezma, P., Bogantes-Ledezma, D., y Bogantes-Ledezma, S. (2004). Aflatoxinas. *Acta Médica Costarricense*, 46(4), 174–178.

[https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0001-60022004000400004yscript=sci\\_arttext&lng=en](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0001-60022004000400004yscript=sci_arttext&lng=en)

- Borja Caicedo, B. E., y Calvo Torras, M. D. L. Á. (2017). Control de micotoxinas en alimentación y salud pública. *Tribuna plural: la revista científica*, (15), 113-138.
- Carrillo, L. (2003). *Los hongos de los alimentos y forrajes*. Universidad Nacional de Salta.
- Carvajal, M. (2013). Transformación de la aflatoxina B1 de alimentos, en el cancerígeno humano, aducto AFB1-ADN. *Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 16(2), 109–120. <https://www.elsevier.es/es-revista-tip-revista-especializada-ciencias-quimico-biologicas-93-pdf-S1405888X13720825>
- Cepero, M. C. (2012). *Biología de hongos*. Universidad de los Andes. <https://elibro.net/es/lc/uaa/titulos/69414>
- Cervantes Juan, M. M. (2016). *El status nutrimental del suelo y su influencia en la contaminación por aflatoxinas en el cultivo de cacahuete (Arachis hypogaea L.)*.
- Commission Directive 2003/100/EC of 31 October 2003 amending Annex I to Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council on undesirable substances in animal feed. Off J Eur Union 2003; L 285: 33-37. <https://www.legislation.gov.uk/eudr/2003/100/adopted>
- CONABIO. (2019). *Procesos ecológicos*. <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/procesose>
- Cowan, C. (2019). Tras los pasos del maíz criollo, 50 años después. *Cimmyt. Recuperado el 10/03/2023* <https://www.cimmyt.org/es/noticias/tras-los-pasos-del-maiz-criollo-50-anos-despues>
- Espinoza Guerra, I.F., Bolívar Montanegro, L., Vallejo Torres, C., López Vera, M.R. y García Montes, Y.M. (2015). Efecto de inoculantes microbianos sobre las características químicas y fermentativas de ensilaje de maíz forrajero. *Revista Espam Ciencia*, 6(1), 15-21.
- FAO (1993). *El maíz en la nutrición humana*, FAO Disponible en <https://www.fao.org/3/t0395s/T0395S02.htm> Recuperado el 05/04/2023
- FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations- World Health Organization). General standard for contaminants and toxins in food and feed. Codex Alimentarius 2019. Codex stan 193–1995. <https://www.fao.org/fao-who->

codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B193-1995%252FCXS\_193e.pdf

FAOSTAT (2021) *Datos, FAO.* Disponible en <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL/visualize> revisado el 10-03-2023  
Recuperado el 10/03/2023

Fernández, M., Catta, M., Rojas, F., Sosa, M.A., Aguirre C., Vergara, M. y Giusiano, G. (2014). Especies de *Aspergillus* en ambientes hospitalarios con pacientes pediátricos en estado crítico. *Revista Iberoamericana de Micología*, 31(3), 176-181.

Flores Chávez, A. (2014). *Efectividad biológica del humus de lombriz en el cultivo de maíz y chile en el Estado de Aguascalientes* [Universidad Autónoma de Aguascalientes]. <http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/handle/11317/872>

Fon-Fay Vásquez, F.M., Barzula Miranda, S.E. y Morán Bajaña, J. (2016). La prevalencia de *Aspergillus* spp. y aflatoxinas en *Zea mays* L. (maíz) almacenado en silos, en Ecuador. *Revista Publicando*, 3(7), 189-202.

Franco Martínez, J. R. P., González Huerta, A., Pérez López, D. D. J., & González Ronquillo, M. (2015). Caracterización fenotípica de híbridos y variedades de maíz forrajero en Valles Altos del Estado de México, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(8), 1915-1927.

García-Vidal, C., y Salavert Lletí, M. (2014). Inmunopatología de las micosis invasivas por hongos filamentosos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 31(4), 219–228. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2014.09.001>

Gómez Ayala, A.-E. (2007). Alimentos y micotoxinas. *Farmacia Profesional*, 21(8), 49–53. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-alimentos-micotoxinas-13109791>

Govaerts, B., Chávez, X., Fernández, A., Vega, D., Vázquez, O., Pérez, M., ... y Rosado, L. G. (2019). Maíz para México-Plan Estratégico 2030.

Hernández-Delgado, S., Reyes-López, M. A., García-Olivares, G., Mayek-Pérez, N., y Reyes-Méndez, A. (2007). Incidencia de Hongos Potencialmente Toxígenos en Maíz (*Zea mays* L.) Almacenado y Cultivado en el Norte de Tamaulipas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 25(2), 127–133.

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092007000200006](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092007000200006)

- INEGI. (2019). *Encuesta Nacional Agropecuaria 2019*. SADER.
- INIFAP. (2010). *Proyecto FZ016: Conocimiento de la diversidad y distribución del maíz nativo y sus parientes silvestres en México. Segunda Etapa 2008-2009. Informe final de actividades* 2008-2010.  
[https://www.biodiversidad.gob.mx/media/1/genes/files/Inf\\_Fin\\_Ags\\_FZ016.pdf](https://www.biodiversidad.gob.mx/media/1/genes/files/Inf_Fin_Ags_FZ016.pdf)
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (2012). *Situación de la seguridad alimentaria en las Américas: documento para alimentar el diálogo de la 42a Asamblea General de la Organización de los Estados Americanos*.  
[http://www.oas.org/es/sre/dai/sociedad\\_civil/docs/oea%20seguridad%20alimentaria%20april%2017%202012.pdf](http://www.oas.org/es/sre/dai/sociedad_civil/docs/oea%20seguridad%20alimentaria%20april%2017%202012.pdf)
- Jallow, A., Xie, H., Tang, X., Qi, Z., & Li, P. (2021). Worldwide aflatoxin contamination of agricultural products and foods: From occurrence to control. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 20(3), 2332-2381.
- Juárez-Becerra, G. P., Sosa-Morales, M. E., y López-Malo, A. (2010). Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 4(2), 14–23.
- Jubert, A., y Echeverría, J. (2022) Contaminación de la leche por aflatoxinas. *Recuperado el 8/3/2023* <https://www.solomamitis.com/alteraciones-de-la-calidad-de-la-leche-contaminacion-por-aflatoxinas>
- Londoño-Cifuentes, E. M. y Martínez-Miranda, M. M. (2017). Aflatoxinas en alimentos y exposición dietaria como factor de riesgo para el carcinoma hepatocelular. *Biosalud*, 16(1), 53-66.
- MacRobert, J.F., Setimela, P., Gethi, J. y Worku Regasa, M. (2014). *Manual de producción de semilla de maíz híbrido*. CIMMYT.
- Martínez Padrón, H. Y., Hernández Delgado, S., Reyes Méndez, C. A., y Vázquez Carrillo, G. (2013). El género *Aspergillus* y sus micotoxinas en maíz en México: problemática y perspectivas. *Revista mexicana de fitopatología*, 31(2), 126-146.
- Martínez, R. L. (2005). Ecología de los hongos patógenos para el hombre. *Revista Mexicana de Micología*, 21, 85–92.

- Martínez Miranda, M. M., Vargas del Río, L. M., y Quintero Gómez V. M. (2013). Aflatoxinas: Incidencia, impactos en la salud, control y prevención. *Biosalud*, 12(2), 89-109.
- Navarro Reyes, O. E. (2013). *Micología veterinaria*. Universidad Nacional Agraria. <http://repositorio.una.edu.ni/2470/>
- Pacasa-Quisbert, F., Loza-Murguía, M. G., Bonifacio-Flores, A., Vino-Nina, L., y Serrano-Canaviri, T. (2017). Comunidad de hongos filamentosos en suelos del Agroecosistema de K'iphak'iphani, Comunidad Choquenaira-Viacha. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 8(1), 2–25.
- Peña Ramos, A., González Castañeda, F. y Robles Escobedo, J. (2010). Manejo agronómico para incrementar el rendimiento de grano y forraje en híbridos tardíos de maíz. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1(1), 27-35.
- Reglamento (CE) N°1881/2006. Por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. 19 de diciembre de 2006.
- Robledo, M. L., Marín, S., y Ramos, A. J. (2001). Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México). *Revista Iberoamericana de Micología*, 18, 141–144.
- Rodríguez, A. V. (2018). *Comportamiento de híbridos de maíz ante una cepa de Aspergillus flavus en la provincia de Córdoba*.
- Rosi, P., Borsari, A., Lasi, G., Lodi, S., Ganti, A., Fava, A., Girotti, S. y Ferri, E. (2007). Aflatoxin M1 in milk: Reliability of the immunoenzymatic assay. *International Dairy Journal*, 17(8), 429-435.
- Rudramurthy, S. M., Paul, R. A., Chakrabarti, A., Mouton, J. W., y Meis, J. F. (2019). Invasive aspergillosis by *Aspergillus flavus*: epidemiology, diagnosis, antifungal resistance, and management. *Journal of Fungi*, 5(3), 55.
- SADER (2016). *Tipos de cultivo, estacionalidad y ciclos*, SADER. Disponible en <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/tipos-de-cultivo-estacionalidad-y-ciclos>  
Recuperado el 05/04/2023
- SADER (2018) *En La Agricultura, Los Sistemas de Riego Son utilizados para un aprovechamiento óptimo Del Agua*. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/articulos/en-la-agricultura-los-sistemas-de-riego-son->



- Silva Arroyave, S. M., y Correa Restrepo, F. J. (2009). Análisis de la contaminación del suelo: revisión de la normativa y posibilidades de regulación económica. *Semestre Económico*, 12(23), 13–34. <http://www.scielo.org.co/pdf/seec/v12n23/v12n23a2.pdf>
- Soriano del Castillo, J. M. (2015). Introducción. In J. M. Soriano del Castillo (Ed.), *Micotoxinas en alimentos* (1st ed.). Ediciones Días de Santos.
- Steenwyk, J. L., Shen, X. X., Lind, A. L., Goldman, G. H., y Rokas, A. (2019). A robust phylogenomic time tree for biotechnologically and medically important fungi in the genera *Aspergillus* and *Penicillium*. *MBio*, 10(4), 1-25.
- Toso, R. E., Toribio, M. S., Diesser, M., Borello, A. B., y Ardoino, S. M. (2018). Afecciones en animales y humanos por ingesta o exposición a las Aflatoxinas: medidas preventivas para evitar los efectos tóxicos. *Ciencia Veterinaria*, 20(1), 51-67.
- UG, Universidad de Guanajuato. (2017) *Sistemas de Producción Agropecuaria - Repositorio de objetos de ...*, *Objetos de aprendizaje*. Disponible en: <https://oa.ugto.mx/wp-content/uploads/2017/10/oa-rg-0001351.pdf> Recuperado el 10/03/2023.
- Yu, J., Cleveland, T. E., Nierman, W. C., y Bennett, J. W. (2005). *Aspergillus flavus* genomics: gateway to human and animal health, food safety, and crop resistance to diseases. *Revista Iberoamericana de Micología*, 22, 194–202.
- Yunus, A. W., Razzazi-Fazeli, E., y Bohm, J. (2011). Aflatoxin B 1 in Affecting Broiler's Performance, Immunity, and Gastrointestinal Tract: A Review of History and Contemporary Issues. *Toxins*, 3, 566–590. <https://doi.org/10.3390/toxins3060566>



**INDICE DE ANEXOS**

ANEXO A MEDIO DE CULTIVO AGAR ROSA DE BENGALA (RBA) .....52  
 ANEXO B CURVA PATRÓN DE ESTANDARES DE MICOTOXINAS .....53  
 ANEXO C TÉCNICA DE ELISA.....55  
 ANEXO D DIVULGACIÓN CIENTÍFICA EN EL CONGRESO NACIONAL DE  
 MICOLOGÍA.....60  
 ANEXO E DIVULGACIÓN CIENTÍFICA EN EL CONGRESO INTERNACIONAL EN  
 EL POSGRADO .....61  
 ANEXO F BIOESTADÍSTICA PARA LA INVESTIGACIÓN.....62  
 ANEXO G ARTICULO CIENTÍFICO (BORRADOR) .....63



### **ANEXO A MEDIO DE CULTIVO AGAR ROSA DE BENGALA (RBA)**

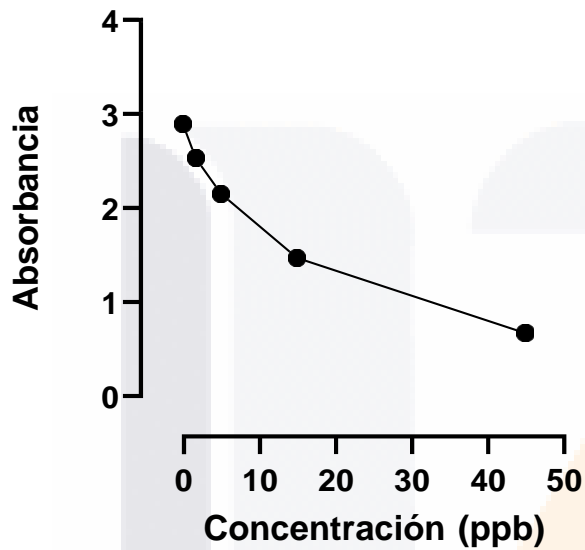
Las siembras de suelo y de ensilaje de maíz se realizaron en el agar rosa de bengala (RBA), para lo cual, se pesaron en una balanza semi analítica (BBDAM PGW 453e, Adam Equipment, EUA) 26.6 g de extracto de malta (Bioxon®, BD Becton Dickinson, EUA), 20 g de agar (Bioxon®, BD Becton Dickinson, EUA) y 0.025 g de rosa de bengala, que se diluyeron en un litro de agua destilada, el preparado se agitó constantemente hasta su ebullición, con la precaución de evitar que se pegará y se quemará. El preparado se esterilizó en autoclave a 15 libras de presión por 15 min.

En una campana de flujo laminar vertical clase II tipo A2 (LVC-180, LuministellMR, México) cuya superficie fue limpiada previamente con alcohol, se introdujeron el medio de cultivo, las cajas Petri estériles, tijeras, algodón y atomizador con alcohol al 70% y se dejaron reposar bajo la luz ultravioleta por lo menos 15 min.

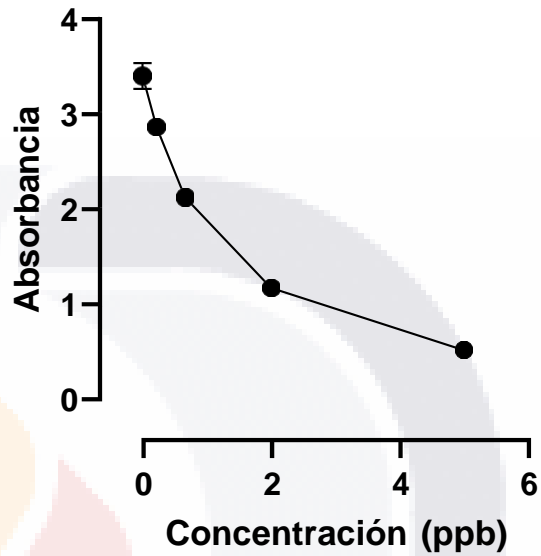
Una vez transcurrido el tiempo se vaciaron 15 ml del medio RBA en cada una de las cajas de Petri estéril y se dejaron enfriar por 20 min dentro de la campana de flujo laminar, para después ser tapadas y refrigeradas para su posterior uso. Se retiraron todos los materiales que fueron utilizados de la campana de flujo laminar y se limpió la superficie con alcohol al 96% y se cerró por completo la puerta de seguridad.

ANEXO B CURVA PATRÓN DE ESTANDARES DE MICOTOXINAS

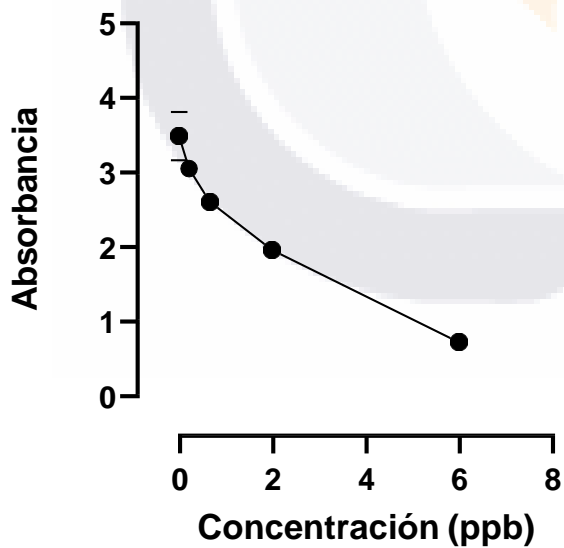
Curva Patrón de AF



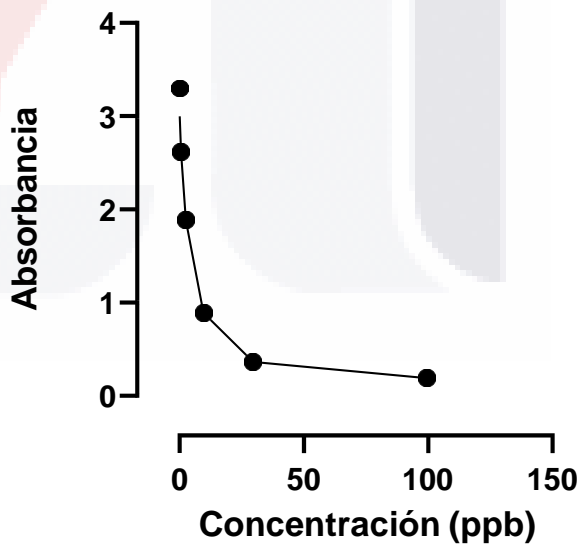
Curva Patrón de DON



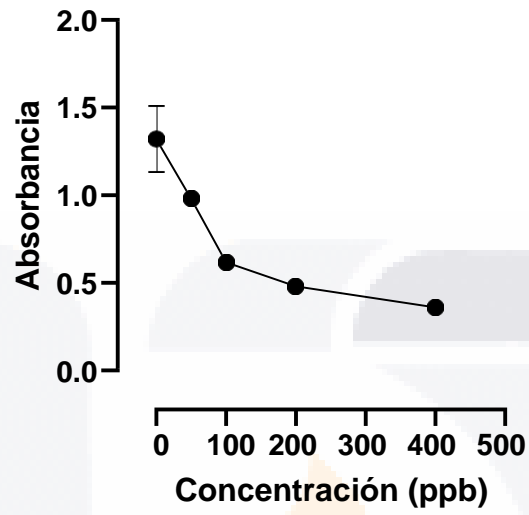
Curva Patrón de FUM



Curva Patrón de OTA



Curva Patrón de ZEA



## ANEXO C TÉCNICA DE ELISA

### A) AFLATOXINAS (AF) (R4701)

De las muestras secas y molidas se pesaron 5 g, posteriormente se agregaron 12.5 mL de metanol al 70% y se agitaron por tres minutos, se filtraron en papel filtro con porosidad #1, del filtrado se diluyo 1 mL en un 1 mL de agua destilada y de esta dilución se tomaron 50  $\mu$ L para cada pocillo de la microplaca. Todos los reactivos se utilizaron a temperatura ambiente (20-25°C / 66-77°F). Como solución de lavado se utilizó un tampón PBS-Tween, el cual se preparó disolviendo el sobre en un litro de agua destilada, se agita para mezclar bien y el tampón se mantiene estable durante 4-6 semanas a una temperatura entre 2-8°C (35-46°F). Se colocaron pocillos suficientes en el soporte de la microplaca tanto para los estándares y las muestras a analizar, se registró en una bitácora las posiciones de los estándares y de las muestras que tomarían en la microplaca. Se agregaron 50  $\mu$ L de los estándares y de las muestras a analizar en los pocillos correspondientes, entre cada estándar y muestra se utilizó una punta nueva y estéril. Después se agregaron 50  $\mu$ L del conjugado aflatoxina-enzima a los pocillos. Luego se añadieron 50  $\mu$ L de anticuerpo anti-aflatoxina mezclando suavemente y dejando reposar por 10 minutos en oscuridad. Transcurrido el tiempo el contenido de los pocillos se vació en un recipiente con golpes energéticos, sobre un papel absorbente limpio se eliminó el excedente del liquido

El lavado de los pocillos se realizó con 250  $\mu$ L de tampón de lavado y el contenido de vació de la forma explicada anteriormente. Posteriormente se agregaron 100  $\mu$ L de cromógeno a cada pocillo, mezclando el contenido de la microplaca suavemente y dejando reposar en oscuridad por 5 minutos a temperatura ambiente. Después se agregaron 100  $\mu$ L de solución de *stop* a cada pocillo y se mezcló suavemente, para finalmente proceder con la lectura la microplaca a una absorbancia de 450 nm. La lectura se realizó en un lector de microplacas ELx800TM, Bio Tex, EUA y los resultados de la absorbancia se registraron y se calcularon usando el software Ridasoft Win versión 1.8.

Límite de detección: 1.7 – 45  $\mu$ g/kg

### b) DEOXINIVALENOL (DON) (R5902)

De las muestras secas y molidas se pesaron 5 g, posteriormente se agregaron 100 mL de agua destilada y se agitaron por tres minutos, se filtraron en papel filtro con porosidad #1, del

filtrado se tomaron 50  $\mu$ L para cada pocillo de la microplaca. Todos los reactivos se utilizaron a temperatura ambiente (20-25°C / 66-77°F). Como solución de lavado se utilizó un tampón PBS-Tween, el cual se preparó disolviendo el sobre en un litro de agua destilada, se agita para mezclar bien y el tampón se mantiene estable durante 4-6 semanas a una temperatura entre 2-8°C (35-46°F).

Se colocaron pocillos suficientes en el soporte de la microplaca tanto para los estándares y las muestras a analizar, se registró en una bitácora las posiciones de los estándares y de las muestras que tomarían en la microplaca. Se agregaron 50  $\mu$ L de los estándares y de las muestras a analizar en los pocillos correspondientes, entre cada estándar y muestra se utilizó una punta nueva y estéril. Después se agregaron 50  $\mu$ L del conjugado a los pocillos. Luego se añadieron 50  $\mu$ L de anticuerpo mezclando suavemente y dejando reposar por 5 minutos en oscuridad. Transcurrido el tiempo el contenido de los pocillos se vació en un recipiente con golpes energéticos, sobre un papel absorbente limpio se eliminó el excedente del líquido. El lavado de los pocillos se realizó con 250  $\mu$ L de tampón de lavado y el contenido se vació de la forma explicada anteriormente. Posteriormente se agregaron 100  $\mu$ L de cromógeno a cada pocillo, mezclando el contenido de la microplaca suavemente y dejando reposar en oscuridad por 3 minutos a temperatura ambiente. Después se agregaron 100  $\mu$ L de solución de *stop* a cada pocillo y se mezcló suavemente, para finalmente proceder con la lectura la microplaca a una absorbancia de 450 nm. La lectura se realizó en un lector de microplacas ELx800TM, Bio Tex, EUA y los resultados de la absorbancia se registraron y se calcularon usando el software Ridasoft Win versión 1.8.

Límite de detección: 0.222– 6.0  $\mu$ g/kg

#### c) **FUMONISINAS (FUM) (R5602)**

De las muestras secas y molidas se pesaron 5 g, posteriormente se agregaron 25 mL de metanol al 70% y se agitaron por tres minutos, se filtraron en papel filtro con porosidad #1, el filtrado se diluyó 1:14 con agua destilada y de esta dilución se tomaron 50  $\mu$ L para cada pocillo de la microplaca. Todos los reactivos se utilizaron a temperatura ambiente (20-25°C / 66-77°F). Como solución de lavado se utilizó un tampón PBS-Tween, el cual se preparó disolviendo el sobre en un litro de agua destilada, se agita para mezclar bien y el tampón se mantiene estable durante 4-6 semanas a una temperatura entre 2-8°C (35-46°F).

Se colocaron pocillos suficientes en el soporte de la microplaca tanto para los estándares y las muestras a analizar, se registró en una bitácora las posiciones de los estándares y de las muestras que tomarían en la microplaca. Se agregaron 50  $\mu\text{L}$  de los estándares y de las muestras a analizar en los pocillos correspondientes, entre cada estándar y muestra se utilizó una punta nueva y estéril. Después se agregaron 50  $\mu\text{L}$  del conjugado a los pocillos. Luego se añadieron 50  $\mu\text{L}$  de anticuerpo mezclando suavemente y dejando reposar por 10 minutos en oscuridad. Transcurrido el tiempo el contenido de los pocillos se vació en un recipiente con golpes energéticos, sobre un papel absorbente limpio se eliminó el excedente del líquido. El lavado de los pocillos se realizó con 250  $\mu\text{L}$  de tampón de lavado y el contenido se vació de la forma explicada anteriormente. Posteriormente se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de cromógeno a cada pocillo, mezclando el contenido de la microplaca suavemente y dejando reposar en oscuridad por 5 minutos a temperatura ambiente. Después se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de solución de stop a cada pocillo y se mezcló suavemente, para finalmente proceder con la lectura de la microplaca a una absorbancia de 450 nm. La lectura se realizó en un lector de microplacas ELx800TM, Bio Tex, EUA y los resultados de la absorbancia se registraron y se calcularon usando el software Ridasoft Win versión 1.8.

Límite de detección: 0.222 – 6.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$

#### **d) OCRATOXINA (OTA) (R5402)**

De las muestras secas y molidas se pesaron 10 g, posteriormente se agregaron 50 mL de extracto ECO diluido en agua destilado (1:10) y se agitaron por cinco minutos, para después ser centrifugadas durante por cinco minutos a 3500 g a temperatura ambiente (25°C), se tomó un mL del sobrenadante y se diluyó con un mL de tampón de lavado y de esta dilución se tomaron 50  $\mu\text{L}$  para cada pocillo de la microplaca. Todos los reactivos se utilizaron a temperatura ambiente (20-25°C / 66-77°F). Como solución de lavado se utilizó un tampón PBS-Tween, el cual se preparó disolviendo el sobre en un litro de agua destilada, se agita para mezclar bien y el tampón se mantiene estable durante 4-6 semanas a una temperatura entre 2-8°C (35-46°F).

Se colocaron pocillos suficientes en el soporte de la microplaca tanto para los estándares y las muestras a analizar, se registró en una bitácora las posiciones de los estándares y de las muestras que tomarían en la microplaca. Se agregaron 50  $\mu\text{L}$  de los estándares y de las muestras a analizar en los pocillos correspondientes, entre cada estándar y muestra se utilizó

una punta nueva y estéril. Después se agregaron 50  $\mu$ L del conjugado a los pocillos, se mezcló suavemente y se dejó incubar por 5 minutos en oscuridad. Transcurrido el tiempo en un recipiente se vació el líquido y sobre un papel absorbente se golpeó vigorosamente el soporte de los micropocillos invertidos (tres veces) para asegurar la eliminación del líquido de los pocillos, posteriormente a los pocillos se les agrego 250  $\mu$ L de tampón de lavado y se vació el líquido repitiendo el procedimiento otras dos veces.

Posteriormente se agregaron 100  $\mu$ L de cromógeno a cada pocillo, mezclando el contenido de la microplaca suavemente y dejando reposar en oscuridad por 3 minutos a temperatura ambiente. Después se agregaron 100  $\mu$ L de solución de *stop* a cada pocillo y se mezcló suavemente, para finalmente proceder con la lectura la microplaca a una absorbancia de 450 nm. La lectura se realizó en un lector de microplacas ELx800TM, Bio Tex, EUA y los resultados de la absorbancia se registraron y se calcularon usando el software Ridasoft Win versión 1.8-

Límite de detección: 1.3 – 100  $\mu$ g/kg

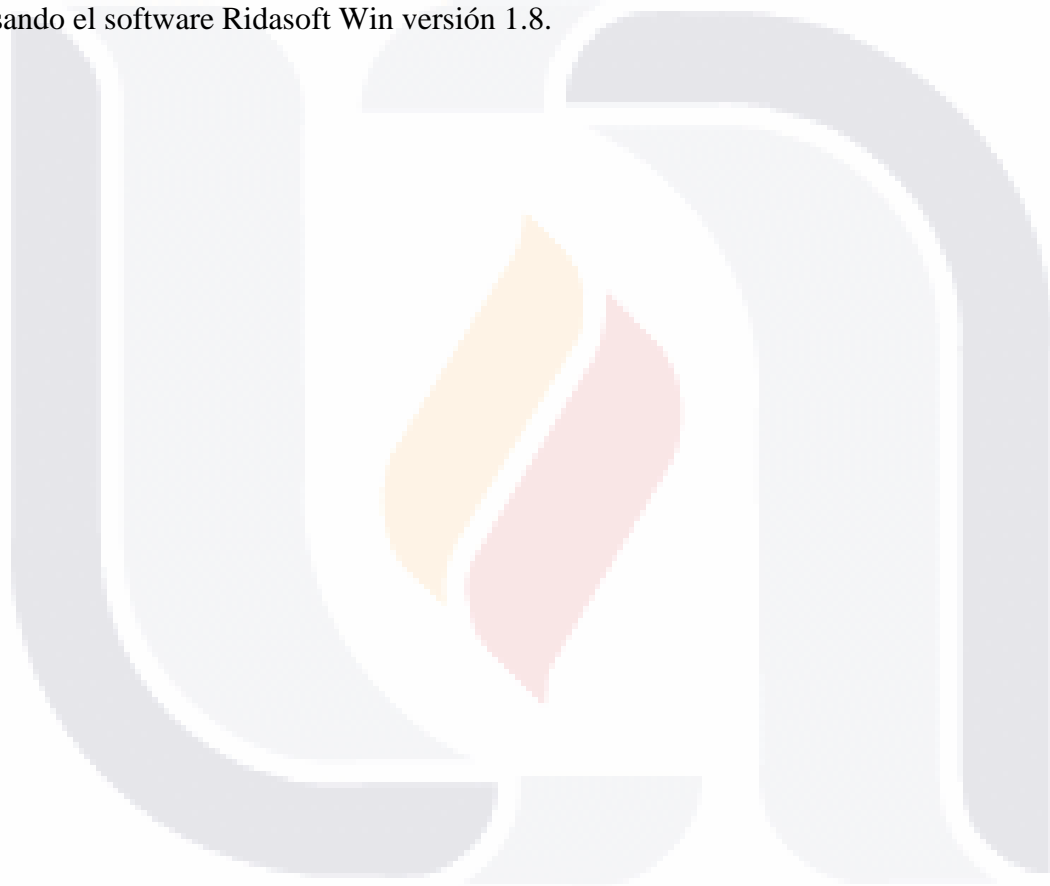
**e) ZEARALENONA (ZEA) (R5502)**

De las muestras secas y molidas se pesaron 5 g, posteriormente se agregaron 25 mL de metanol al 70% y se agitaron por tres minutos, se filtraron en papel filtro con porosidad #1, el filtrado se diluyo un mL del filtrado con un mLde agua destilada y de esta dilución se tomaron 50  $\mu$ L para cada pocillo de la microplaca. Todos los reactivos se utilizaron a temperatura ambiente (20-25°C / 66-77°F). Como solución de lavado se utilizó un tampón PBS-Tween, el cual se preparó disolviendo el sobre en un litro de agua destilada, se agita para mezclar bien y el tampón se mantiene estable durante 4-6 semanas a una temperatura entre 2-8°C (35-46°F).

Se colocaron pocillos suficientes en el soporte de la microplaca tanto para los estándares y las muestras a analizar, se registró en una bitácora las posiciones de los estándares y de las muestras que tomarían en la microplaca. Se agregaron 50  $\mu$ L de los estándares y de las muestras a analizar en los pocillos correspondientes, entre cada estándar y muestra se utilizó una punta nueva y estéril. Después se agregaron 50  $\mu$ L del conjugado a los pocillos. Luego se añadieron 50  $\mu$ L de anticuerpo mezclando suavemente y dejando reposar por 10 minutos en oscuridad. Transcurrido el tiempo el contenido de los pocillos se vació en un recipiente con golpes energéticos, sobre un papel absorbente limpio se eliminó el excedente del liquido



El lavado de los pocillos se realizó con 250  $\mu\text{L}$  de tampón de lavado y el contenido de vacío de la forma explicada anteriormente. Posteriormente se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de cromógeno a cada pocillo, mezclando el contenido de la microplaca suavemente y dejando reposar en oscuridad por 5 minutos a temperatura ambiente. Después se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de solución de stop a cada pocillo y se mezcló suavemente, para finalmente proceder con la lectura la microplaca a una absorbancia de 450 nm. La lectura se realizó en un lector de microplacas ELx800TM, Bio Tex, EUA y los resultados de la absorbancia se registraron y se calcularon usando el software Ridasoft Win versión 1.8.



ANEXO D DIVULGACIÓN CIENTÍFICA EN EL CONGRESO NACIONAL DE  
MICOLOGÍA



**XIII CONGRESO NACIONAL DE MICOLOGÍA**  
SAN CRISTÓBAL DE LAS CASAS | CHIAPAS | 2022  
Los hongos, la red que nos conecta



LA SOCIEDAD MEXICANA DE MICOLOGÍA  
Y  
EL INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE  
LA UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS  
**OTORGAN LA PRESENTE**

# Constancia

A:  
**Silva Serna Lilia Paulina**

Por participar con el cartel:  
**Persistencia de *Aspergillus flavus* toxigénico en cultivos de maíz en  
Aguascalientes durante ciclos agroecológicos consecutivos**  
En el marco del XIII Congreso Nacional de Micología,  
celebrado del 17 al 21 de octubre de 2022 en San Cristóbal de Las Casas, Chiapas.



  
**Dra. Laura Guzmán Dávalos**  
Presidente de la Sociedad Mexicana de Micología

  
**Mtro. Ricardo Hernández Sánchez**  
Director del ICBIOL-UNICACH

  
**Dr. Felipe Ruan Soto**  
Presidente del Comité de Organización Local



ANEXO E DIVULGACIÓN CIENTÍFICA EN EL CONGRESO INTERNACIONAL  
EN EL POSGRADO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES

La Universidad Autónoma de Aguascalientes otorga la presente

POSGRADOS UAA

# CONSTANCIA

a

BIÓL. LILIA PAULINA SILVA SERNA; DR. ARTURO GERARDO VALDIVIA FLORES;  
DRA. ALMA LILIÁN GUERRERO BARRERA; DRA. ELSA MARCELA RAMÍREZ LÓPEZ;  
DR. RAÚL ORTÍZ MARTÍNEZ

por su participación en la Modalidad Cartel  
en la mesa de Ciencias Biológicas y Agropecuarias  
dentro del

CONGRESO INTERNACIONAL  
LA INVESTIGACIÓN EN EL POSGRADO  
Edición Virtual

SE LUMEN PROFERRE  
Aguascalientes, Ags. 12, 13 y 14 de Octubre de 2022

Dr. Francisco Javier Avelar González  
Rector

Mtra. Elizabeth Casillas Casillas  
Directora General de Investigación y Posgrado

**ANEXO F BIOESTADÍSTICA PARA LA INVESTIGACIÓN**

BAV0123-16

**BioAdviser**  
Educación

BioAdviser Educación otorga la presente

**CONSTANCIA A:**

*Lilia Paulina Silva Serna*

Por haber aprobado el curso en línea:

**Bioestadística para la investigación**

Llevado a cabo del 14 de enero al 4 de febrero de 2023  
Duración: 18 horas. Ciudad de México, México.



Dr. Hugo Arturo de la  
Cruz Burelo  
Director General



M. en C. Enrique  
Ambrosio Ortiz  
Capacitador

**ANEXO G ARTICULO CIENTÍFICO (BORRADOR)**

*Tipo de manuscrito: artículo científico*

**PRESENCIA DE HONGOS TOXIGENICOS EN SUELO  
AGRICOLA Y ENSILAJE DE MAIZ EN  
AGUASCALIENTES, MÉXICO**

Lilia Paulina **Silva-Serna**<sup>1</sup>, Arturo Gerardo **Valdivia-Flores**<sup>1</sup>, Alma  
Lilian **Guerreo-Barrera**<sup>1</sup>, Elsa Marcela **Ramírez-López**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Aguascalientes. Av. Universidad #940,  
Ciudad Universitaria, Aguascalientes, Ags., México. C.P. 20100

**Citation:** Apellido-Apellido NN,  
Apellido-Apellido NN, Apellido-Apellido  
N, Apellido-Apellido N. 2022. Título del  
artículo. Agrocienca  
<https://doi.org/10.47163/xxx>

**Editor in Chief:**

Dr. Fernando C. Gómez-Merino

Received: month, year.

Approved: month, year.

Published in Agrocienca #: #-#. 2022.

This work is licensed under a Creative  
Commons Attribution-Non-  
Commercial 4.0 International license.



Los autores no deben realizar ningún cambio en este apartado.

\*Autor para correspondencia: [lpilsler@gmail.com](mailto:lpilsler@gmail.com)

## RESUMEN

Se analizó la presencia de hongos toxigénicos durante dos ciclos agroecológicos consecutivos muestreados bajo lineamientos normativos mexicanos (técnica “M”) en unidades de producción lechera (UPL) del estado de Aguascalientes, Méx. El procesamiento de las muestras se realizó en el Laboratorio de Investigación de la Posta Zootécnica del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, México. Se analizaron 40 muestras en total, 10 tomadas en octubre 2021 de suelo agrícola, 10 en enero 2021 de ensilaje de maíz, 20 restantes en marzo 2022 también de ensilaje almacenado (tres meses). Para conocer la concentración de aflatoxinas y otras micotoxinas, se cuantificaron con competitivo directo, su siembra e incubación se hizo en Agar Rosa de Bengala con técnica vaciado en placa por diluciones, se hizo conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) concluyendo con la identificación taxonómica y morfológica de las colonias fúngicas donde el 100% de las muestras de los ciclos presentaron crecimiento fúngico, las muestras de suelo agrícola a finales del 2021 presentaron un total de 134 colonias fúngicas de diferentes géneros, los cuales fueron: *Penicillium* (58.2%), *Aspergillus* (35.1%), *Trichoderma* (3.7%), *Rhizopus* (2.2%) y *Mucor* (0.7%), las muestras de suelo agrícola a inicio de ciclo 2022 tuvieron un total de 182 colonias; *Penicillium* (66.5%), *Aspergillus* (18.7%), *Eurotium* (7.7%), *Rhizopus* (3.3%), *Cladosporium* (2.7%) y *Trichoderma* (1.1%). El 50% de muestras de ensilaje de maíz del ciclo 2021 y primer mes del 2022 presentaron un; 50% (*Penicillium*), 25% (*Fusarium*), 12.5% (*Aspergillus*) y 12.5% (*Rhizopus*) y las muestras de ensilaje del mismo periodo con almacén de 3 meses registraron crecimiento en el 80% de ellas, correspondiendo a; 81.8% (*Aspergillus*), 6.8% (*Penicillium*), 4.5% (*Rhizopus*), 4.5% (*Candida*) y 2.3% (*Mucor*). Por chi cuadrada se demostró diferencia significativa con la frecuencia de géneros fúngicos con relación al tiempo de almacenamiento y otros factores ambientales.

**Palabras clave:** micotoxinas, ensilaje de maíz, suelo agrícola, Aguascalientes

## INTRODUCCIÓN

Dentro de la agricultura los hongos fitopatógenos son los responsables de enfermedades en los cultivos de hortalizas, cereales y frutas, ocasionando pérdidas económicas y alteraciones en el ciclo biológico de la planta, además de ser un factor importante en la descomposición de las semillas y los frutos, ocasionando que tanto animales y humanos que consuman estos productos contaminados puedan presentar una micotoxicosis, la cual es producida por

metabolitos secundarios tóxicos de los hongos (Cepero, 2012; Juárez-Becerra *et al.*, 2010).

Los cuales son compuestos no esenciales para el crecimiento del hongo, donde se pueden encontrar a los antibióticos y a las micotoxinas, estas últimas pudiendo ser altamente tóxicas como las aflatoxinas (AF) (Soriano del Castillo, 2015; Yu *et al.*, 2005). Esta micotoxina producida por *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* y/o *Penicillium puberulum*, tiene una mayor presencia en climas tropicales y subtropicales afectando principalmente a cultivos de sorgo, maíz, algodón y cacahuate, aunque también se han aislado en arroz, soja, girasol, sésamo, olivo, nueces, almendras, avellanas, legumbres, café, leche, pescado y en derivados de los alimentos antes mencionados (Arenas Guzmán y Torres Guerrero, 2019; Navarro Reyes, 2013; Yu *et al.*, 2005; Yunus *et al.*, 2011).

En México el cultivo de maíz (*Zea mays l.*) tiene una gran importancia económica, social y cultural, con un consumo anual *per capita* de 196.4 kg (Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentos, 2017) y que además forma parte fundamental del alimento del sector ganadero con el que se elabora el ensilaje de maíz (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020).

Considerando que la producción de aflatoxinas se ve beneficiada por las condiciones del sustrato, factores bioquímicos, biológicos y condiciones ambientales (Carvajal, 2013) y que cada región cuenta con características propias, se vuelve necesario conocer los factores que intervienen en la producción de AF, para que en un futuro se puedan crear estrategias de acción específicas y eficaces que logren mitigar los efectos negativos tanto económicos como en la salud que representan las AF.

El estado de Aguascalientes el cultivo de maíz es básico en las unidades de producción lechera (UPL) por lo que se destinan 61,390 ha para la siembra de maíz forrajero (SADER, 2019). Dentro de los factores que influyen en el establecimiento del hongo y en la producción de micotoxinas son la temperatura, disponibilidad de agua, enfermedades y plagas, y las condiciones de almacenamiento (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 2012). El suelo es un componente dinámico del ambiente en que se desarrolla la vida y que funge como reservorio de los inóculos de los hongos que pueden afectar a los cultivos (Cervantes Juan, 2016; CONABIO, 2019; Pacasa-Quisbert *et al.*, 2017; Silva Arroyave & Correa Restrepo, 2009). Además, por alteraciones ocasionadas por las prácticas agronómicas pueden influir en la calidad y diversidad del suelo (Altieri & Nicholls, 2000).

De los hongos nativos del suelo se encuentran los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, que son capaces de producir micotoxinas que

contaminan a los cultivos, como las aflatoxinas producidas por especies de *Aspergillus*, ocratoxina A producida por especies de *Penicillium* y zearalenona deoxinivalenol, fumonisinas producidas por especies del género *Fusarium*.

Por lo que la finalidad de este trabajo fue evaluar la influencia de los factores ambientales en la permanencia de *A. flavus* en el Estado de Aguascalientes. Esto para comprobar si la presencia de *A. flavus* y las AF persisten durante ciclos agroecológicos consecutivos en los cultivos de maíz en Aguascalientes.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron dos muestreos para suelo agrícola durante los meses de octubre de 2021 y marzo de 2022, que corresponden al fin del ciclo agroecológico 2021 y al inicio del ciclo agroecológico 2022 respectivamente, siguiendo y adaptando las técnicas descritas en la NOM-021-RECNAT-2000 y en la NMX-AA-132-SCFI-2006, por cada muestreo se realizó la toma de datos ambientales (temperatura, humedad relativa y precipitación) por medio de las estaciones meteorológicas del INIFAP. Para la toma de muestra se realizó un muestreo en zigzag o también llamaba técnica de "M", la cual consiste en trazar un M imaginaria sobre la parcela, procediendo con la recolección de las muestras en cada uno de los picos de esta. Para el caso del ensilaje de maíz los muestreos se realizaron en enero y marzo 2022, el cual era un ensilaje con 0 mese de almacenamiento y el segundo correspondía a un ensilaje con tres meses de almacenamiento, utilizando la técnica de "M", pero en cada uno de los puntos de recolección se descartaban los primeros 20 cm del ensilaje y después se tomaba la muestra.

Para esto se utilizó un sacabocado con el cual se perforó a 30 cm de profundidad del suelo para obtener una submuestra de 100 g aproximadamente, este procedimiento se repitió 5 veces por punto hasta obtener un total de 5 submuestras que se resguardaron en bolsas, debidamente identificadas y se transportaron en hielera al Laboratorio de Investigación del centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA).

El procesamiento de las muestras de suelo se realizó con el secado de las muestras sobre cajas de papel estraza, haciendo que la capa no fuera mayor a 2.5 cm de espesor y se dejaron secar a temperatura ambiente. Una vez secas se procedió con la molienda con apoyo de un martillo de madera, de igual forma de manera manual se retiraron rocas y materia orgánica visible para después realizar el tamizaje con un tamiz del #20, para finalizar la homogenización de las submuestras en una bolsa grande en las que el suelo se revolvía en todas direcciones.



Por su parte el ensilaje de maíz se dejó secar en cajas de papel estraza a una temperatura de 60°C por 24 h, una vez secas y con apoyo de un molino Thomas Wiley se molieron, una vez molida se guardaron en bolsas herméticas en refrigeración hasta su uso.

Con las muestras molidas se prosiguió con la técnica de vaciado en placas por dilución, bajo condiciones de esterilidad, donde se pesaron 10g de la muestra y se depositaron en matraces de 250 ml donde se les agregó 90 mL de agua peptonada al 0.1%, para luego ser agitados por 30 min. Una vez agitadas se prepararon cuatro diluciones por muestra ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ ). Dentro de una campana de flujo laminar previamente esterilizada con alcohol al 70% y en reposo con luz ultravioleta por 20 min, se tomaron 200  $\mu$ L con una micropipeta para ser sembrado en medio de cultivo de rosa de bengala (RBA) y se dejaron incubando en oscuridad por 7 días a 27-30°C con revisión diaria.

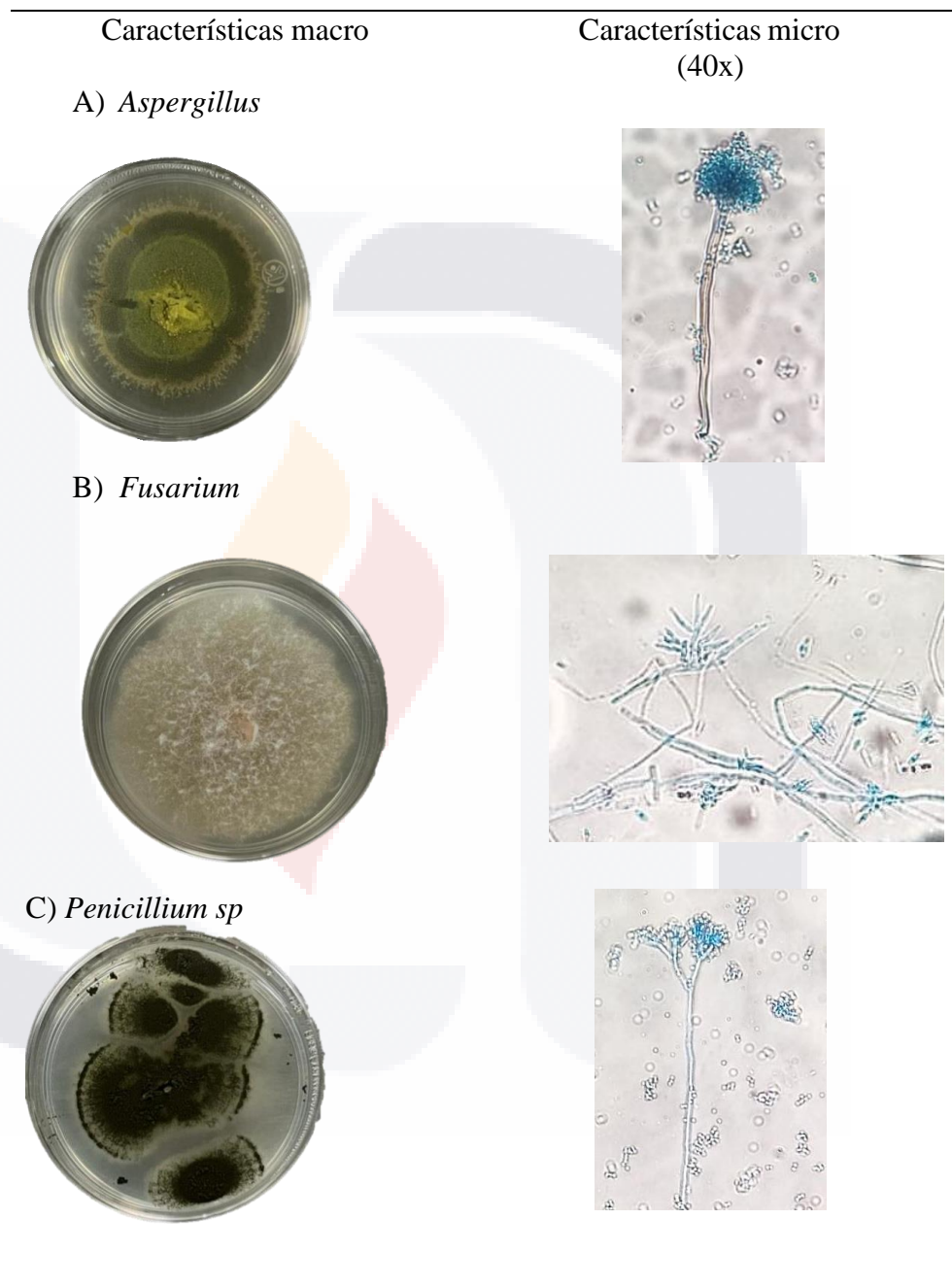
A las colonias resultante se les realizó preparaciones de azul de algodón-lactofenol para su posterior identificación bajo microscopio óptico (Carl Zeiss, Axiostar plus, EUA), la técnica consistía en tomar una porción de la colonia de interés y depositarla en un portaobjetos esterilizado que contenía una gota de azul-lactofenol. La identificación y cuantificación de micotoxinas se realizó por medio de pruebas comerciales de ELISA competitivo (RIDASCREEN®), siguiendo el protocolo proporcionado por el proveedor y leídas las microplacas en el programa RIDASOFT® Win.NET.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las muestras de suelo agrícola pertenecientes al final del ciclo agroecológico 2021 se registró el conteo de una o varias colonias fúngicas en el 100% de las muestras, con un total de 134 colonias fúngicas de diferentes géneros, los cuales fueron: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Rhizopus* y *Mucor* (58.2, 35.1, 3.7, 2.2 y 0.7%, respectivamente). Para las muestras de suelo agrícola correspondientes al inicio del ciclo agroecológico 2022 se registró el crecimiento de una o varias colonias fúngicas en el 100% de las muestras con un total de 182 colonias de los géneros: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Eurotium*, *Rhizopus*, *Cladosporium* y *Trichoderma* (66.5, 18.7, 7.7, 3.3, 2.7 y 1.1 %, respectivamente)

Por su parte las muestras de ensilaje de maíz de 0 meses de almacenamiento se registró el crecimiento de una o varias colonias fúngicas en el 50% de las muestras con un total de 8 colonias de diferentes géneros, los cuales fueron: *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus* y *Rhizopus* (50.0, 25.0, 12.5 y 12.5 %, respectivamente). Para las muestras de ensilaje de maíz con un almacenamiento de tres meses se registró el crecimiento de una o varias colonias fúngicas en el 80% de las muestras con un total de 44 colonias de los géneros

*Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Candida* y *Mucor* (6.8%, 81.8, 4.5, 4.5, 2.3%). En ambos tipos de muestras se encontraron *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp* (Figura 1)



**Figura 1.** Hongos toxigénicos encontrados en muestras de suelo y ensilaje de maíz. A) *Aspergillus sp* B) *Fusarium sp* C) *Penicillium sp*.

Los tipos de muestras fueron estadísticamente diferentes, siendo las muestras de suelo agrícola en las que se presentó una mayor cantidad de colonias fúngicas, esto debido a las condiciones anaeróbicas en las que se elabora el ensilaje de maíz, evitando de esta manera el establecimiento de los hongos y su pudrición (Espinoza Guerra *et al.*, 2015). De los hongos toxigénicos identificados en los dos tipos de muestras fueron *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, son considerados hongos habitantes del suelo pudiendo generar problemas en los campos de cultivo (Serrano-Colli y Cardona-Castro, 2015).

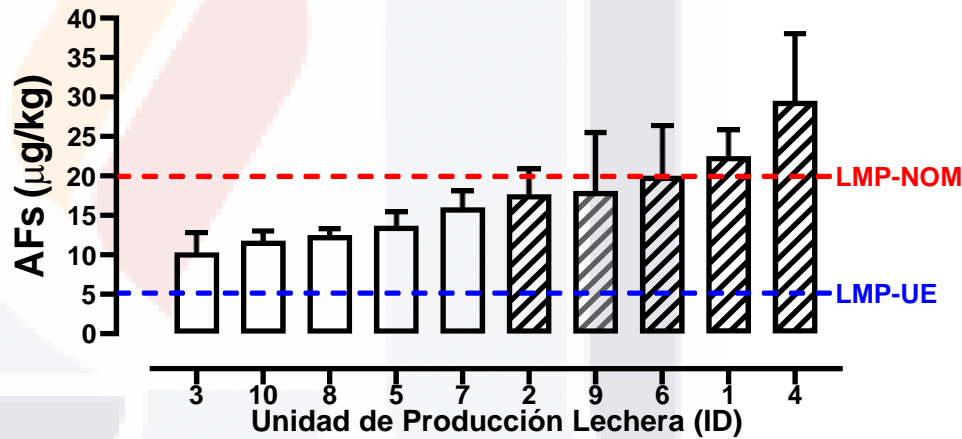
En las muestras de suelo agrícola las frecuencias de las colonias fúngicas fueron significativamente diferente entre el cierre del ciclo agroecológico 2021 y el inicio del ciclo agroecológico 2022, siendo el periodo de inicio el que conto con una mayor cantidad de colonias fúngicas. Para el caso de la frecuencia de las colonias fúngicas en las muestras de ensilaje de maíz se encontró que de igual manera existe una diferencia significativa con respecto al tiempo de almacenamiento, siendo el ensilaje de maíz con tres meses de almacenado el que conto con un recuento mayor de colonias, por lo que las condiciones anaeróbicas cambiaron durante el almacenamiento. El incremento de la presencia de colonias fúngicas se puede deber a diversos factores que impactan en la calidad del ensilaje, algunos de los factores que pueden deteriorar la calidad del ensilaje son una mala compactación de los forrajes, existencia de orificios que permitan el paso del aire, insectos, el uso de material inadecuado para el silo y la mala praxis con respecto al manejo y mantenimiento (Gómez Ayala, 2007; Martínez-Fernández *et al.*, 2014).

Por otra parte, se identificaron y cuantificaron cinco micotoxinas en las muestras de ensilaje de maíz de ambos tiempos de almacenaje (Cuadro 1).

MICOTOXINA	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (meses)	Concentración (µg/kg)	LMP (CA)	LMP (UE)	Muestras superiores al LMP (UE) (%)
Aflatoxinas totales	0	23.2 ± 10.1	20.0	5	100
	3	11.2 ± 3.9	20.0	5	90
Deoxinivalenol	0	1,402 ± 1165	-	1,250	0
	3	1,735 ± 1,507.4	-	1,250	0
Fumonisina	0	1,790.5 216 ± 340.8	-	4,000	0
	3	13.6 ± 8.6	-	4,000	0
Ocratoxina A	0	6.1 ± 3.6	-	5	50
	3	13.6 ± 8.6	-	5	80
Zearalenona	0	592.05 ± 245.6	-	1,750	0
	3	628.5 ± 375.8	-	1,750	0

**Cuadro 1.** Identificación y cuantificación de micotoxinas en ensilaje de maíz con respecto a Codex alimentarius (CA) y a las directivas de la Unión Europea (UE).

Se encontraron UPL donde los niveles de AF se encontraban por arriba del límite máximo permisible establecidos por las normas oficiales mexicanas y por las directivas de la Unión Europea (Figura 2).



**Figura 2.** Cuantificación de Aflatoxinas totales (AFs) de ensilaje de maíz de las UPL y su relación con los LMP de la NOM y las directivas de la UE.

La presencia y las concentraciones de las distintas micotoxinas sugiere que durante el proceso de la elaboración del ensilaje estuvieron presentes hongos capaces de producir la toxinas que contaminan al maíz. De los hongos capaces de producir a las AF son los algunas especies del género *Aspergillus*, para el resto de micotoxinas identificadas son producidas por especies de los géneros *Fusarium* (ZEA, DON y FUM) y *Penicillium* (OTA) (Franco et al., 2014; Serrano-Colli & Cardona-Castro, 2015).

La producción de las micotoxinas, que se obtuvo una mayor cuantificación de las diversas micotoxinas fue en las muestras del mes de marzo 2022, ya que la producción de micotoxinas requiere de una serie de factores como: el hongo, el sustrato, la humedad del ambiente y del sustrato, la temperatura, el microbiota asociada, el oxígeno y el periodo de almacenamiento (Arrúa Alvarenga et al., 2013), por lo que por el incremento de temperatura que hubo entre enero y marzo pudo influir en la producción de estas aunado también a malas praxis durante el almacenamiento.

Para la evaluación de factores se analizaron el tipo de matriz donde crecían las colonias fúngicas (suelo agrícola y ensilaje de maíz), por lo que por medio de una prueba de chi cuadrada se obtuvo que existe una diferencia significativa de la frecuencia de géneros fúngicos con el tipo de matriz ( $p \leq 0.05$ ). Con la misma prueba se obtuvo que existe una diferencia significativa de la frecuencia de géneros fúngicos con relación al tiempo de almacenamiento del ensilaje de maíz ( $p \leq 0.05$ ).

También se evaluaron los factores ambientales de temperatura, precipitación y humedad relativa (HR). De acuerdo con el análisis la precipitación no tiene diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). Mientras que los factores de temperatura y HR fueron significativos ( $p \leq 0.05$ ) a la cantidad de AF en las muestras de ensilaje de maíz. Esto debido a la interacción de estos dos factores junto con el hongo permiten la producción de las micotoxinas (Martínez Padrón et al., 2013). Se ha observado que las cargas del hongo *Aspergillus* son altas en relación con una alta HR ambiental y con las variaciones de la temperatura (Fon-Fay Vásquez, Barzola Miranda y Moran Bajaña, 2016) (Cuadro 2).

MICOTOXINA	FACTOR AMBIENTAL	VALOR-P
Aflatoxinas totales	Temperatura	0.0414
	Precipitación	0.0593
	Humedad relativa	0.0111

**Cuadro 2.** Comparación de medias de los factores con relación a AF

### CONCLUSIONES

La presencia de los hongos del género *Aspergillus* persiste a través de los ciclos agroecológicos a pesar de las interacciones bióticas y abióticas que ocurren dentro de las UPL. Se encontraron en las muestras de suelo agrícola y de ensilaje de maíz hongos toxigénicos de los *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, y sus respectivas micotoxinas en las muestras de ensilaje de maíz, cuya contaminación incrementó en aquellas muestras que tuvieron un mayor tiempo de almacenaje. Es importante recalcar que se detectó que existe una

problemática entorno a la contaminación no solo de las AF, sino también con DON, OTA y ZEA, ya que se encontraron UPL que mantuvieron en promedio por arriba de los LMP establecidas por las directivas de la UE.

En cuestión de los factores que intervienen en el establecimiento y producción de las AF, se determinó las condiciones de temperatura y HR presentes durante la época de siembra primavera-verano son propicias para la contaminación en el maíz aunado a una praxis para el almacenamiento del ensilaje, por lo que se puede afirmar que la hipótesis se cumplió al determinar que los factores ambientales permiten el establecimiento del hongo y la producción de sus micotoxinas a lo largo de los ciclos agroecológicos del maíz.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento a la Universidad Autónoma de Aguascalientes y a CONACYT

### REFERENCIAS

- Altieri, M., & Nicholls, C. I. (2000). Capítulo 2: Un enfoque agroecológico para el desarrollo de sistemas de producción sustentables para los campesinos andinos. In *AGROECOLOGÍA: Teoría y práctica para una agricultura sustentable* (pp. 45–98). Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente.
- Arenas Guzmán, R., & Torres Guerrero, E. (2019). *Micología medica ilustrada* (6th ed.). Mc Graw Hill.
- Arrúa Alvarenga, A. A., Moura Méndez, J., & Fernández Ríos, D. (2013). Aflatoxinas, un riesgo real. *Reportes Científicos de La FACEN*, 4(1), 68–81.
- Carvajal, M. (2013). Transformación de la aflatoxina B1 de alimentos, en el cancerígeno humano, aducto AFB1-ADN. *Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 16(2), 109–120. <https://www.elsevier.es/es-revista-tip-revista-especializada-ciencias-quimico-biologicas-93-pdf-S1405888X13720825>
- Cepero, M. C. (2012). *Biología de hongos*. Universidad de los Andes. <https://elibro.net/es/lc/uaa/titulos/69414>
- Cervantes Juan, M. M. (2016). *El status nutrimental del suelo y su influencia en la contaminación por aflatoxinas en el cultivo de cacahuete (Arachis hypogaea L.)*. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.
- CONABIO. (2019). *Procesos ecologicos*. <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/procesose>
- Espinoza Guerra, I. F. A., Bolívar Montenegro, L., Vallejo Torres, C. A., López Vera, M. R., & García Montes, Y. M. (2015). Vista de Efecto de inoculantes microbianos sobre las características químicas y fermentativas de ensilajes de maíz forrajero.

ESPAMCIENCIA, 6(1), 15–21.  
[http://190.15.136.171/index.php/Revista\\_ESPAMCIENCIA/article/view/92/76](http://190.15.136.171/index.php/Revista_ESPAMCIENCIA/article/view/92/76)

- Fon-Fay Vásquez, F.M., Barzula Miranda, S.E. y Morán Bajaña, J. (2016). La prevalencia de *Aspergillus* spp. y aflatoxinas en *Zea mays* L. (maíz) almacenado en silos, en Ecuador. *Revista Publicando*, 3(7), 189-202.
- Franco, H., Vega, A., Reyes, S., de León, J., & Bonilla, A. (2014). Niveles de Ocratoxina A y Aflatoxinas totales en cafés. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 64(1), 42–49. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222014000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222014000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Gómez Ayala, A.-E. (2007). Alimentos y micotoxinas. *Farmacia Profesional*, 21(8), 49–53. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-alimentos-micotoxinas-13109791>
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (2012). Situación de la seguridad alimentaria en las Américas: documento para alimentar el diálogo de la 42a Asamblea General de la Organización de los Estados Americanos. [http://www.oas.org/es/sre/dai/sociedad\\_civil/docs/oea%20seguridad%20alimentaria%20april%2017%202012.pdf](http://www.oas.org/es/sre/dai/sociedad_civil/docs/oea%20seguridad%20alimentaria%20april%2017%202012.pdf)
- Juárez-Becerra, G. P., Sosa-Morales, M. E., & López-Malo, A. (2010). Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 4(2), 14–23.
- Martínez-Fernández, A., Argamentaría Gutiérrez, A., & de la Roza Delgado, B. (2014). Capítulo VIII: Ensilabilidad de forrajes. In SERIDA (Ed.), *Manejo de forrajes para ensilar* (pp. 97–106). Gofer.
- Martínez Padrón, H. Y., Hernández Delgado, S., Reyes Méndez, C. A., y Vázquez Carrillo, G. (2013). El género *Aspergillus* y sus micotoxinas en maíz en México: problemática y perspectivas. *Revista mexicana de fitopatología*, 31(2), 126-146.
- Navarro Reyes, O. E. (2013). *Micología veterinaria*. Universidad Nacional Agraria. <http://repositorio.una.edu.ni/2470/>
- Pacasa-Quisbert, F., Loza-Murguía, M. G., Bonifacio-Flores, A., Vionina, L., & Serrano-Canaviri, T. (2017). Comidad de hongos filamentosos en suelos del Agroecosistema de K'iphak iphani, Comunidad Choquenaira-Viacha. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 8(1), 2–25.
- SADER. (2019). *Programa de Concurrencia con Entidades Federativas. Compendio de indicadores 2018: Aguascalientes*. <https://www.agricultura.gob.mx/sites/default/files/sagarpa/document/2020/03/18/1837/19032020-pcef-2018-compendio-aguascalientes.pdf>
- Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentos, S. (2017). *Planeación agrícola nacional 2017-2030: Maíz*

- grano blanco y amarillo mexicano.  
[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256429/B\\_sico-Ma\\_z\\_Grano\\_Blanco\\_y\\_Amarillo.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256429/B_sico-Ma_z_Grano_Blanco_y_Amarillo.pdf)
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2020). *Maíz forrajero, también es maíz.*  
<https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-forrajero-tambien-es-maiz>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2021, June 3). *¿Qué come el ganado?*  
<https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/que-come-el-ganado?Idiom=es>
- Serrano-Colli, H. A., & Cardona-Castro, N. (2015). Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. *CES Medicina*, 29, 143–151.  
<http://www.scielo.org.co/pdf/cesm/v29n1/v29n1a12.pdf>
- Soriano del Castillo, J. M. (2015). Introducción. In J. M. Soriano del Castillo (Ed.), *Micotoxinas en alimentos* (1st ed.). Ediciones Días de Santos.
- Yu, J., Cleveland, T. E., Nierman, W. C., & Bennett, J. W. (2005). *Aspergillus flavus* genomics: gateway to human and animal health, food safety, and crop resistance to diseases. *Revista Iberoamericana de Micología*, 22, 194–202.
- Yunus, A. W., Razzazi-Fazeli, E., & Bohm, J. (2011). Aflatoxin B 1 in Affecting Broiler's Performance, Immunity, and Gastrointestinal Tract: A Review of History and Contemporary Issues. *Toxins*, 3, 566–590.  
<https://doi.org/10.3390/toxins3060566>