



UNIVERSIDAD MICHOACÁNA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología
Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas

Incidencia de hongos ocratoxigénicos en granos de maíz provenientes de distintos sistemas de almacenamiento

Tesis

que presenta:

Biol. WILMER CASTILLO NAJAR

Para obtener el título de:

Maestro en ciencias Biológicas

Área temática:

Biotecnología Pecuaria

Asesora:

D.C. Virginia A. Robinson Fuentes

Co-asesor:

D.C. Gerardo Vázquez Marrufo

Sinodales:

D.C. Alejandra Ochoa Zarzosa

D.C. Ma. Soledad Vázquez Garcidueñas

D. C. Omar Chassin Noria



Morelia, Michoacán. Agosto, 2019

El presente trabajo de tesis se realizó en el Laboratorio de Conservación y Biotecnología Microbiana del Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología y el Laboratorio de Desarrollo Analítico del Centro de Estudios de Postgrado en Ciencias de la Salud de la facultad de Medicina de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Agradezco el apoyo económico brindado por Conacyt número de beca 819815.

Agradecimientos

Agradezco infinitamente a todas las personas involucradas en la realización de este proyecto, especialmente a mis padres Ma. Elva najar Izq. y Juan Antonio Castillo Mtz. quienes son el pilar fundamental que me mantiene erguido y fuerte para culminar esta etapa.

Con admiración y respeto a la doctora Virginia A. Robinson Fuentes, por todo su apoyo en la realización de este proyecto y por su guía en mi formación académica y personal.

Al doctor Gerardo Vázquez Marrufo, por el apoyo brindado como co-asesor, sus consejos y correcciones, gracias a los cuales hoy puedo terminar este proyecto.

A mis compañeros de laboratorio con quienes compartí alegrías, metas cumplidas, frustraciones, decepciones y quienes con su amistad hacían los experimentos más llevaderos y divertidos.

Agradezco infinitamente a la bióloga Alondra Alvarez Pérez quien jamás me permitió derrotarme y me impulso a llegar a hasta el final de este proyecto.

También agradezco al QFB. Pablo flores por haberme brindado su amistad y apoyo en el transcurso de esta etapa.

Contenido

	Página
Índice de Figuras.....	I
Índice de Tablas.....	III
Resumen.....	IV
Abstract.....	V
1.- Introducción.....	1
2. Marco teórico.....	2
2.1. El maíz.....	2
2.2. Descripción botánica del maíz.....	2
2.2.1. Sistema radicular.....	2
2.2.2. Tallo.....	2
2.2.3. Grano.....	3
2.2.4. Estructuras sexuales.....	4
2.2.5. Etapas fenológicas del maíz.....	4
2.2.6. Etapas vegetativas.....	5
2.2.7. Etapas reproductivas.....	5
2.3. Panorama Agroalimentario.....	5
2.3.1. Producción mundial de maíz.....	5
2.3.2. Producción nacional de maíz.....	6
2.3.3. Consumo Nacional de Maíz.....	7
2.3.4. Seguridad alimentaria en México.....	7
2.4. Sistemas de producción.....	8
2.5. Agricultura corporativa.....	9
2.6. Agricultura Familiar.....	9

2.6.1. Cultivo de maíz bajo el esquema de Agricultura Familiar en México ...	10
2.6.2. Periodo post cosecha.....	10
2.6.3. Sistemas de almacenamiento	11
2.6.4. Problemáticas durante el periodo pos cosecha.....	13
2.7. <i>Aspergillus spp.</i>	15
2.8. <i>Penicillium spp.</i>	15
2.9 Micotoxinas.....	16
2.10. Ocratoxina A.....	17
2.11. Alimentos con presencia de OTA	18
2.12. Aspectos Tóxicos de OTA	18
2.13. Biosíntesis de OTA	19
2.14. Genes involucrados en la síntesis de OTA.....	21
2.15. Factores que afectan la producción de OTA.....	22
2.16. Reglamentación sobre niveles de OTA en alimentos	23
3. Justificación.....	24
4. Hipótesis.....	25
5. Objetivos	25
5.1. Objetivo general.....	25
5.2. Objetivos específicos	25
6. Metodología.....	26
6.1 Descripción del área de estudio.....	26
6.1.1 Umécuaro.....	26
6.1.2 El Zapotillo	27
6.2. Fabricación del silo metálico.....	28
6.3. Toma de muestras.....	29

6.4. Pruebas fisiológicas.....	31
6.4.1 Prueba de germinación	31
6.4.2. Prueba de vigor	31
6.4.3. Determinación de daño por hongos	31
6.5. Aislamiento de especies fúngicas.....	31
6.6. Identificación de aislados fúngicos a nivel de género	32
6.7. Identificación de aislados fúngicos por métodos moleculares	32
6.7.1. Extracción de ADN	32
6.7.2. Ensayos de PCR.....	32
6.7.3. Análisis de las secuencias amplificadas.....	33
6.8. Determinación de OTA en granos de maíz.....	33
6.8.1. Extracción de OTA.....	33
6.8.2. Cuantificación de OTA	34
6.9. Determinación de la producción de OTA por parte de los hongos aislados	34
6.9.1. Cultivo en medio PDB	34
6.9.2. Extracción de OTA a partir de medio PDB	34
6.9.3. Determinación por TLC (Cromatografía en Capa Fina).....	34
7. Resultados	35
7.1. Calidad física y fisiológica de los granos de maíz.....	35
7.1.1 Daño asociado a hongos en los granos de maíz	35
7.1.2 Germinación de los granos de maíz.....	36
7.1.3 Vigor de las semillas de maíz.....	37
7.2 Incidencia de hongos en los granos de maíz.....	37
7.2.1 Incidencia de especies ocratoxigénicas en los granos de maíz	43
7.2.2 Incidencia de otras especies asociadas a los granos de maíz	45

7.3 Producción de ocratoxina A y otras micotoxinas por especies aisladas de los granos de maíz	47
7.4 Determinación de OTA en semillas de maíz	48
7.5 Comparación de los sistemas de almacenamiento locales y un sistema de almacenamiento estandarizado (Silo metálico galvanizado)	49
7.5.1 Comparación de la conservación de las características físicas y fisiológicas de los granos de maíz	49
Vigor.....	50
7.5.2 Comparación de la incidencia de especies fúngicas en los sistemas de almacenamiento.....	50
7.5.3 Comparación de la incidencia de ocratoxina A en los sistemas de almacenamiento.....	51
8. Discusión.....	52
9. Resumen de Resultados	63
10. Conclusión.....	64
11. Bibliografía	65
12. Anexo	82
12.1 Anexo 1. Tablas de pruebas de t de student para la comparación de medias entre los sistemas de almacenamiento familiares y los sistemas de almacenamiento validados	82

Índice de figuras

	Página
Figura 1. Morfología de las estructuras sexuales del género <i>Aspergillus</i>	15
Figura 2. Morfología de las estructuras sexuales del género <i>Penicillium</i>	16
Figura 3. Estructura química de la ocratoxina A.....	18
Figura 4. Ruta biosintética de OTA propuesta por Huff y Hamilton (1973). Tomado de Khoury y Atoui, (2006).....	20
Figura 5. Ubicación de los sitios de colecta en la localidad de Umécuaro, municipio de Morelia Michoacán. (A) Municipio de Morelia, Michoacán, (B) ubicación del área de cultivo, (C) ubicación del almacén.....	26
Figura 6. Ubicación de los sitios de colecta en la localidad de “El Zapotillo” municipio de Tzitzio Michoacán. (A) Municipio de Tzitzio Michoacán, (B) ubicación del área de cultivo, (C) ubicación del almacén.....	28
Figura 7. Dimensiones del silo metálico galvanizado.....	28
Figura 8. Toma de muestras por transecto durante el periodo Nov-Dic del año 2018.....	29
Figura 9. Diseño para la toma de muestras de cereales almacenados a granel en bodegas o almacenamientos en intemperie. Vista superior. (NOM-251-SSA1-2009).....	30
Figura 10. Metodología de toma de muestra según la NOM-251-SSA1-2009. A) Cereales almacenados a granel en silos. Vista superior. B) Cereales almacenados en costales.....	30
Figura 11. Porcentaje promedio de daño en los granos de maíz durante los diferentes periodos de muestreo en las dos comunidades de estudio.....	35
Figura 12. Porcentaje de germinación de los granos de maíz.....	36

Figura 13. Porcentaje de germinación promedio relacionado al vigor de las semillas de maíz de la localidad de Umécuaro y Zapotillo.....	37
Figura 14. Promedio del porcentaje de incidencia de hongos en las localidades de estudio.....	43
Figura 15. Incidencia de especies fúngicas pertenecientes al género <i>Aspergillus</i> asociadas a los granos de maíz en las localidades de estudio.....	44
Figura 16. Incidencia de especies fúngicas pertenecientes al género <i>Penicillium</i> asociadas a los granos de maíz en las localidades de estudio.....	44
Figura 17. Incidencia de <i>Fusarium verticilloides</i> en los granos de maíz en ambas localidades de estudio.....	45
Figura 18. Incidencia de <i>Talaromyces</i> spp., <i>Sternocarpella maydis</i> y <i>Pichia</i> sp. asociados a los granos de maíz en las localidades de estudio.....	46
Figura 19. Incidencia de OTA en las muestras de granos de maíz.....	48

Índice de tablas

	Página
Tabla 1. Especificaciones de los porcentajes de daño en maíz en la NMX-FF-034-1995.....	14
Tabla 2. Principales micotoxinas, hongos que las producen y alimentos que contaminan (Neme y Mohammed, 2017).....	17
Tabla 3. Especies aisladas de los granos de maíz.....	38
Tabla 4. Producción de OTA por especies fúngicas aisladas de los granos de maíz.....	47
Tabla 5. Prueba de T para la comparación de medias de los porcentajes de daño en los granos de.....	82
Tabla 6. Prueba de t para comparación de medias acerca del porcentaje de germinación en los sistemas de almacenamiento.....	82
Tabla 7. Prueba de t para comparación de medias acerca del porcentaje de germinación relacionado al vigor en los sistemas de almacenamiento.....	83
Tabla 8. Prueba de t para comparación de medias del contenido promedio de OTA en ambas localidades de estudio.....	50
Tabla 9. Prueba de t para comparación de medias del contenido promedio de OTA en ambas localidades de estudio.....	83

Resumen

Agricultura , Familiar, *Aspergillus*, *Penicillium*, Micotoxinas.

La agricultura familiar es un sistema agrícola practicado en zonas rurales del país, asociado al auto consumo de los productos agrícolas donde los miembros de la familia fungen como la principal fuerza de trabajo. En Michoacán este sistema se presenta en el 90% de los municipios, siendo el maíz el principal producto cultivado. Especies fúngicas pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* se presentan en los almacenes de maíz dañando los granos y contaminándolos con micotoxinas como la ocratoxina A (OTA), exponiendo la salud de los consumidores y provocando pérdidas económicas. Los objetivos de este estudio fueron: analizar la identidad de los hongos asociados a los almacenes de maíz de productores familiares del estado de Michoacán; conocer cómo afectan la calidad física y fisiológica de los granos almacenados, determinar la presencia de Ocratoxina A y comparar los sistemas de almacenamiento locales contra un sistema de almacenamiento validado internacionalmente. Los principales hongos encontrados en los almacenes pertenecen a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*; se encontró presencia de *Aspergillus Flavus* y *Fusarium verticilloides*, productores de micotoxinas. Las variedades de maíz utilizadas presentaron resistencia al daño y porcentajes de germinación y vigor altos. OTA se determinó en el 100% de las muestras analizadas y se logró confirmar la producción de OTA en condiciones de laboratorio por dos aislados de *Aspergillus*, uno de *Penicillium* y un aislado del genero *Talaromyces*. El sistema de almacenamiento validado obtuvo incidencias de hongos, daños y presencia de OTA menores, así como valores altos de germinación y vigor; sin embargo, las diferencias no fueron significativas estadísticamente. Los granos provenientes de almacenes locales tuvieron incidencias altas de hongos ocratoxigénicos, así como otras especies de importancia agronómica causantes de problemáticas en el almacenamiento y producción de micotoxinas. La presencia de ocratoxina A solo rebasó las normas europeas en los almacenes locales de la localidad de Umécuaro.

Abstract

Family agriculture is an agricultural system that is practiced in rural areas of the country. This is commonly practiced for self-consumption in family settings where all members participate as the work force. Family agriculture is a common practice in more than 90% of the farmland in Michoacan, where corn is the main agricultural crop. Fungal genres such as *Aspergillus* and *Penicillium* are frequently found in corn warehouses causing damage to the seeds integrity and probably, producing mycotoxins, such as ochratoxin A (OTA). As a consequence, the producers' health can be affected and they can face serious economic losses. The aims of this study were to analyze the identity of the fungal species found in corn warehouses of producers practicing family agriculture, if the fungi affect the physical and physiological quality of the corn seeds, to determine contamination of the seeds by OTA and finally, to compare the common storage device of producers against a validated system by FAO. Fungi found in the location storage devices were from the genres *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium*, especially *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticilloides*, which are fungal species known for being mycotoxigenic. The corn varieties here studied were resistant to fungal damage and had a high percentage of germination and vigor. OTA was present in all samples analyzed and the production of OTA by the fungal strains isolated from the corn samples was confirmed under laboratory conditions. The isolates that produced OTA in the culture media were: two from *Aspergillus*, one from *Penicillium* and one from *Talaromyces*. The validated storage device produced better results in terms of protecting the seeds from fungal damage and that they had higher percentage of germination and vigor; however, when the results were compared with the local storage devices, not significant statistical differences were found. Corn seeds from the local storage device contained a greater number of fungal species than the validated device. Fungal species that were isolated from all sorts of storage devices were either ochratoxigenic or species that are agriculturally important. The concentration of OTA in the corn seeds were above the limits imposed by the EU only in the locality of Umecuaró.

1.- Introducción

En México el cultivo de maíz ocupa el 85% del volumen nacional de cereales y se encuentra presente en todos los estados, climas y altitudes; las variedades de este cultivo son tan diversas como las formas en las que se consume. En el país se identifican claramente dos sistemas de producción, el comercial y el de autoconsumo (León- Torres., 2017). Este último está estrechamente relacionado con propiedades donde la extensión del terreno de cultivo resulta poco rentable o insuficiente para pagar el trabajo que exige su explotación, por lo que la mano de obra comúnmente es familiar. Las zonas con producción para autoconsumo son comunes en regiones con alto índice de marginación y pobreza. Los agricultores minifundistas, con menos de 3 ha en promedio, fraccionadas en varias parcelas, llegan a un rendimiento promedio de 0.86 ton/ha (SAGARPA, 2012).

Para los agricultores de subsistencia, los hongos productores de micotoxinas representan un problema de particular importancia, durante el periodo de almacenamiento. Las malas prácticas o deficiencias en el sistema de almacenamiento pueden comprometer la viabilidad y salud de su semilla, ya que los granos que cultivan y almacenan dichos productores forman parte de los alimentos básicos que consume la familia de manera diaria, durante todo el año. Diversas especies fúngicas pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* están asociadas a esta problemática, causando enfermedades que se traducen en pérdidas, baja productividad y contaminación del producto con micotoxinas (Manuel, 2007). Por las razones anteriores es importante estudiar la incidencia de hongos asociados a los granos de maíz durante el periodo de almacenamiento y las condiciones que permiten tanto su aparición como la producción de micotoxinas, permitirá diseñar estrategias predictivas para garantizar la calidad del grano y la seguridad de los consumidores.

2. Marco teórico

2.1. El maíz

El término maíz se deriva de “mahiz”, antigua palabra taina (lenguaje arahuacano, ahora extinto) de los pueblos indígenas de la América precolombina. Pruebas arqueológicas indican que el maíz era el alimento básico de las antiguas civilizaciones maya, azteca y olmeca de México, y su cultivo más venerado (O’Leary, 2016). El maíz (*Zea mays* L.) es una gramínea originaria del continente americano, La mayor diversidad de especies de maíz se encuentra en México, por lo cual se propone a éste como centro de domesticación y diversificación (Matsuoka *et al.*, 2002). De entre las 220 y 300 variedades de maíz reportadas en el continente americano, 61 se encuentran en territorio mexicano (Vigouroux *et al.*, 2008). La gran diversidad de maíz en México se debe a la variación geográfica y cultural del país; los antiguos agricultores seleccionaban el mejor maíz para sus ambientes y usos específicos y, como resultado, se generaron distintas variedades (O’Leary, 2016). En la actualidad, se acepta que el maíz se domesticó en México hace cerca de 10,000 años, a partir de una especie de teocintle (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) y posteriormente se difundió a través de las Américas siguiendo diversas rutas (Vigouroux *et al.*, 2008).

2.2. Descripción botánica del maíz

2.2.1. Sistema radicular

El sistema radicular de las plantas de maíz es fasciculado y a diferencia de otros cereales presenta un tercer sistema de raíces aéreas o adventicias, las cuales son visiblemente notorias por encima del nivel del suelo. Estas raíces no se presentan hasta que la planta ha alcanzado los 60-70 cm de alto y sirven para mejorar la fijación de la planta al suelo, ya que los otros sistemas no ejercen una buena fijación (Carrera *et al.*, 2005).

2.2.2. Tallo

El tallo del maíz es una caña maciza, cuyo diámetro disminuye de la base hacia el ápice y se constituye por una sucesión de nudos y entrenudos de forma cilíndrica

en la parte posterior y ligeramente aplastados en la parte inferior. La altura de los tallos se encuentra en intervalos de 1.5 m a 3 m, dependiendo de la variedad. Las hojas se disponen en posición alternada, mientras que las nerviaciones se encuentran de manera recta y paralela al nervio central, con un aproximado de 15 a 20 nerviaciones a lo largo del ciclo, presentan un limbo grande de 35 a 80 cm de largo y 4 a 19 cm de ancho con una vaina envolvente (Carrera *et al.*, 2005).

2.2.3. Grano

La calidad del grano de maíz está asociada tanto con su constitución física, que determina la textura y dureza, como con su composición química, que define el valor nutrimental y las propiedades tecnológicas; la importancia relativa de estas características dependerá del destino final de la producción, para la industria que emplea el grano de maíz la calidad física y fisiológica de los granos es una preocupación fundamental debido a que se requieren granos sanos, limpios, de tamaño, textura y color uniforme (Zepeda-Bautista *et al.*, 2009) .

El maíz es uno de los cereales de mayor tamaño, los granos se encuentran colocados en ejes paralelos de forma aplanada en la mazorca. Son cariósides desnudas compuestas por el pericarpio, el endospermo, el germen o la región germinativa

Pericarpio

Constituye la parte externa del grano, del 5 al 6% del peso total del grano constituido por la epidermis, el mesocarpio, células transversales, tubulares y la cubierta seminal mejor conocida como testa, proporciona resistencia al agua y el vapor así como una primera línea de defensa para los insectos y los microorganismos.

Endospermo

El Endospermo es un tejido que rodea el embrión y sirve como su almacén de nutrientes durante la germinación y primeras etapas de la vida. En la mayoría de las variedades de maíz representa aproximadamente el 80-85% del peso seco del grano. Los nutrientes están almacenados en forma de almidón, aunque son

frecuentes también los aceites y las proteínas; El endospermo está conformado por una capa de aleurona, endospermo corneo, vítreo y harinoso.

- Capa aleurona: Compuesta por una capa de células con alto contenido de gránulos proteicos.
- Endospermo corneo: Tejido conformado por células de forma irregular y alargadas
- Endospermo vítreo: Compuesto por paredes celulares, gránulos de almidón y gránulos de proteínas.
- Endospermo harinoso: se localiza en la parte central del grano constituido por células grandes en relación con las demás células del endospermo y con bastos gránulos de almidón.

Germen

Es el responsable de generar una nueva planta al germinar la semilla. Presenta un alto contenido de nutrientes, principalmente grasas, proteínas, vitaminas, azúcares y minerales. Es la parte más susceptible del grano, al ataque de microorganismos e insectos, que afectan la calidad del producto.

2.2.4. Estructuras sexuales

El maíz es una planta monoica con dos tipos de inflorescencia, la inflorescencia masculina se denomina panícula. Esta se puede encontrar de forma más o menos ramificada, situada al final del tallo, formada por varios ejes donde se insertan pares de espiguillas. Las estructuras femeninas se denominan mazorcas, las cuales están constituidas por flores agrupadas sobre una o varias espigas insertas en la parte axilar de las hojas inferiores del tallo, unidas mediante un pedúnculo de longitud variable según la variedad y envueltas por hojas modificadas de nombre espatas (Carrera *et al.*, 2005).

2.2.5. Etapas fenológicas del maíz

Existen diversas maneras de determinar las etapas del desarrollo del maíz. En las regiones tropicales y subtropicales, los productores se refieren a estas etapas como “días de madurez”, una medición de tiempo desde la siembra hasta el momento de la cosecha. En regiones frías como Canadá se utiliza un sistema de unidades térmicas que reconoce el tiempo y la temperatura, y dichas unidades térmicas son

acumulativas; sin embargo, el sistema para determinar las etapas del desarrollo más utilizado es el del collar de la hoja, el cual divide el desarrollo del cultivo en dos etapas la vegetativa (V) y la reproductiva (R). Esto facilita la diferenciación y utiliza las etapas fisiológicas definidas en el desarrollo de la planta (Ritchie *et al.*, 1996).

2.2.6. Etapas vegetativas

Las etapas vegetativas (V) se caracterizan por la presencia del collar de una hoja en hojas emergidas. La hoja de maíz tiene tres partes principales: el limbo o lámina, la vaina y el collar, siendo este último una línea de demarcación entre la lámina y la vaina, normalmente con una curva definida. A medida que la planta de maíz crece, cada hoja sucesiva sale a la luz debido a la elongación del tallo. La punta de la hoja es la primera parte visible; luego le sigue la lámina de la hoja, y finalmente el collar y la vaina. Cuando un collar es visible, la hoja se considera completamente emergida y se cuenta en el esquema de etapas. Las etapas vegetativas del desarrollo comienzan con la emergencia (VE) y continúan de forma numérica con cada hoja sucesiva hasta que emerge el penacho (VT).

2.2.7. Etapas reproductivas

Las etapas reproductivas (R) se caracterizan por la emergencia de granos en desarrollo en la mazorca, excepto por la primera etapa reproductiva (R1), que se identifica únicamente por la emergencia de estigmas de las espigas. Hay seis etapas reproductivas, que comprenden la etapa de ampolla (R2), la etapa de grano lechoso (R3), la etapa de grano pastoso (R4), la etapa de grano dentado (R5) y la madurez fisiológica (R6).

2.3. Panorama Agroalimentario

2.3.1. Producción mundial de maíz

Hoy en día el maíz es el cereal más producido a nivel mundial, esto debido a que sus características nutricionales se han explotado en la producción de proteína animal, consumo humano y usos industriales. Su relevancia económica y social supera la de cualquier otro cultivo, siendo una fuente alimenticia y de empleo de un vasto número de personas en el mundo. La producción mundial de maíz en el ciclo comercial 2016/2017 se prospectó como la más alta de la historia, con 1067.2

millones de toneladas, constituyendo un incremento del 10.2% con respecto del ciclo productivo anterior. Esta prospección representa producciones récord por parte de los principales productores de maíz a nivel mundial. Estados Unidos se presenta como el primer lugar en producción de maíz, seguido de China, Brasil, Unión Europea y Argentina (FIRA, 2017).

2.3.2. Producción nacional de maíz

México se encuentra en el sexto lugar mundial de producción de maíz, con una producción estimada en el ciclo agrícola 2016/2017 de 28.5 millones de toneladas (FIRA, 2017). A través del tiempo, la tecnificación y el apoyo a la agricultura han logrado posicionar al país como uno de los 10 países con mayor producción de este cereal. En México existen alrededor de 3.2 millones de productores registrados y se estima un consumo per cápita de 278 kg de maíz al año (León- Torres, 2017; SIAP, 2015). Durante el año agrícola 2015, el 85.9% de la producción nacional correspondió a maíz blanco, 13.6% a maíz amarillo y el restante 0.5% a otros tipos de maíz.

Diez estados de la república concentraron el 80% de la producción de maíz en el ciclo agrícola 2016/2017, siendo Sinaloa el principal productor con 5.2 millones de toneladas y el 22% del total de la producción nacional. El estado de Michoacán se encuentra dentro de los 10 primeros estados con una alta producción de maíz; durante el año agrícola 2015 se encontraba en el 4° lugar en producción por modalidad hídrica de temporal, con cultivos principalmente en el ciclo agrícola primavera-verano, destacando entre los 9 estados con mejor rendimiento en el ciclo de cultivo temporal (FIRA, 2016).

En los países industrializados el maíz se utiliza principalmente como forraje, materia prima para la producción de alimentos procesados y recientemente para procesos industrializados como la producción de etanol. En algunos países de América Latina, incluyendo a México, el maíz que se produce o importa se destina principalmente a la alimentación del ganado y el consumo humano (Serratos, 2009).

La estimación nacional de pérdidas por merma de maíz fluctúa entre un 4% a 25%. Estas pérdidas presentan porcentajes más altos durante el periodo de post cosecha,

principalmente el periodo de almacenamiento seguido por el periodo de transporte (10%-15%). En 2009, la Agencia de Servicios de Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios (ASERCA), estimó que las pérdidas anuales de maíz oscilaban entre el 5% y el 25%; sin embargo, en el 2010, la SAGARPA, a través de la balanza mensualizada de disponibilidad- consumo de maíz blanco anunciaba que la merma de maíz era del 4% de la producción disponible de maíz de importación (SIAP, 2010).

Los granos almacenados invariablemente están expuestos a riesgo de sufrir pérdidas en cantidad, aspecto y propiedades nutricionales, debido a la interacción con diferentes factores bióticos y abióticos durante su estancia en el almacén (Ortiz-Rosales *et al.*, 2015).

2.3.3. Consumo Nacional de Maíz

La importancia del consumo de maíz para la alimentación de la población en México se ve reflejado en lo reportado por la FAOSTAT, la cual documentó que durante el año 2013 México se posicionó en el primer lugar mundial en el consumo de maíz y productos derivados. Estos productos representaron alrededor del 30% del consumo calórico diario de la población mexicana y se refleja en el consumo per cápita anual de 120 kg. Las familias mexicanas destinan en promedio el 8% del gasto en alimentos únicamente en la compra de tortillas (INEGI, 2012), aunque este no es el único producto a base de maíz que figura en las listas de frecuencia de consumo de los mexicanos (Romero-Martínez *et al.*, 2013).

2.3.4. Seguridad alimentaria en México

Según la encuesta nacional de salud y nutrición en el 2012, solo el 30 % de los hogares mexicanos cuentan con seguridad alimentaria, esto se traduce en el hecho de que poco menos de un tercio de las familias mexicanas tiene acceso a alimentos suficientes de forma permanente. La situación se vuelve más grave cuando se observan los datos recolectados en las zonas rurales, donde más del 80% de las familias vive en algún grado de inseguridad alimentaria. Aunado a lo anterior, en México existen niveles importantes de desnutrición crónica en la población preescolar. Al menos el 14% de los niños menores a 5 años presentan tallas bajas

para su edad, y se sabe que dicha situación puede generar efectos adversos en la vida adulta relacionados con morbilidad, mortalidad, desarrollo psicomotor, así como en su desempeño intelectual y físico (Romero-Martínez *et al.*, 2013).

En general, los problemas de producción, almacenamiento y distribución de los alimentos, el acceso a los mercados y el nivel de dependencia en cuanto a la importación de productos básicos, son factores que se suman a las problemáticas del panorama agroalimentario en el país. A pesar de que México figura entre los principales productores, el 26% de la oferta de maíz en el mercado corresponde a importación (FAOSTAT, 2013). Por lo anterior, es necesario contar con políticas públicas que alcancen a atender el problema del hambre en nuestro país, que atiendan las problemáticas preventivas, que permitan que los alimentos estén disponibles, sean seguros y de calidad, y que permitan la distribución a aquellos sectores de la población que no puedan acceder por falta de ingresos o acceso físico.

2.4. Sistemas de producción

Los sistemas de producción agrícola se definen como conjuntos de aprovechamientos agrícolas individuales con recursos básicos, pautas empresariales, medios familiares de sustento y limitaciones en general similares, a los cuales corresponden estrategias de desarrollo e intervenciones parecidas (Nicholls *et al.*, 2015). Según el alcance del análisis, un sistema agrícola puede abarcar desde unas cuantas docenas a millones de factores.

La clasificación de sistemas de producción agrícola de las regiones en desarrollo se fundamenta en los siguientes criterios

- Recursos naturales básicos disponibles:
Comprendidos el agua, extensiones de tierra, zonas de pastoreo y bosques
Clima: Predominantemente la altitud
Paisaje; pendiente, dimensión de la finca, régimen, organización y tenencia de la tierra
- Actividad agrícola y el medio de sustento:
Cultivo, ganado, acuicultura, recolección o cacería

Tecnologías empleadas (intensidad de producción) e integración de los cultivos.

Debido a la magnitud geográfica, la tipografía y la abundante biodiversidad, tanto en América Latina, en particular, como en el mundo, en general, los sistemas agrícolas son muy bastos y extensos.

Debido a la gran demanda de productos básicos primarios y alimentos, la agricultura puede dividirse en agricultura corporativa y agricultura familiar, estos sistemas agrícolas son contrastantes entre sí en temas de tecnificación, cantidad de producción, mano de obra y extensión de tierra cultivada (Bélières *et al.*, 2015).

2.5. Agricultura corporativa

La agricultura corporativa nace como una medida para hacer frente a la crisis alimentaria y climática, donde un número considerable de empresas (principalmente “semilleras”) han llevado a cabo la concentración corporativa de los cultivos aportando tecnificación, ventajas adaptativas y resistencia por parte de los cultivos, con la finalidad de elevar la producción y el rendimiento de estos (Ribeiro, 2009).

En este sistema, el enfoque de la operación de la granja es diferente del sistema familiar, ya que el enfoque corporativo exige no sólo el cultivo de productos alimenticios, sino también la amplia gama de servicios adicionales que son importantes para la comercialización de los alimentos producidos. Desde esta perspectiva, el marketing corporativo no es sólo de agricultura en sí mismo, sino también del resto de componentes que se encuentran bajo el amplio paraguas de la producción agrícola, la comercialización y la distribución (FAO, 2013).

2.6. Agricultura Familiar

La agricultura familiar se define como un sistema de producción agrícola que es gestionado por una familia, y que en su mayor parte depende de la mano de obra familiar. La familia y la explotación están vinculadas, co-evolucionan y combinan funciones económicas ambientales reproductivas, sociales y culturales (FAO, 2013).

2.6.1. Cultivo de maíz bajo el esquema de Agricultura Familiar en México

El cultivo de maíz se encuentra en el primer lugar de productos agrícolas cíclicos producidos por el sistema de agricultura familiar en México, con una presencia en el 65% del territorio nacional. Este sistema productivo genera una producción del 63% del volumen total obtenido por agricultura familiar con potencial productivo, representando un ingreso para estas familias del 58% del total de sus ingresos (SAGARPA, 2012). Para las familias campesinas, el maíz es el cultivo más importante debido a que es la base de su dieta. Además, la venta de excedentes de este grano es un eslabón comercial que ha facilitado a las familias hacerse de algunos recursos financieros destinados, en parte, a la adquisición de otros alimentos. Por esta razón, se asume que el maíz puede ser la base de la seguridad alimentaria familiar, sobre todo en cultivos de temporal donde se ha manejado asociado con frijol, calabaza, chile y múltiples arvenses, un policultivo conocido como milpa (Huato *et al.*, 2014).

En el estado de Michoacán, el 90% de los municipios llevan a cabo el cultivo de maíz bajo los esquemas de la agricultura familiar, esto debido a que la distribución porcentual de la superficie agrícola de acuerdo al potencial productivo se mantiene entre las categorías medio alto (SAGARPA, 2012).

2.6.2. Periodo post cosecha

La post cosecha es una parte importante del ciclo agrícola, en el que las buenas prácticas permiten conservar la calidad de los productos para el consumo o comercialización. Frecuentemente, los costos de producción, las plagas, enfermedades y fertilización del cultivo acaparan la atención de los productores, mientras que los sistemas de almacenamiento post cosecha empleados no son eficientes para prevenir el daño mecánico en los granos, las plagas o la aparición de microorganismos como bacterias y hongos y las consecuencias derivadas de estos.

A nivel mundial se reportan pérdidas en el periodo pos cosecha que van del 5 a 15% en los países desarrollados y del 20 al 50% en los países en vías de desarrollo. En México, la mayoría de los pequeños agricultores tienen problemas durante la

poscosecha y son justo los agricultores de bajos recursos quienes reportan casi la mitad de las pérdidas, de entre el 10 y el 40%, a causa de un manejo deficiente y la nula asistencia técnica, aun cuando se destina solo al autoconsumo (García-Lara y Bergvinson, 2007). Se reporta también que, en regiones secas del territorio mexicano, las pérdidas son menores al 5%, mientras que los porcentajes aumentan en las zonas subtropicales y tropicales, con hasta 20% y 40%, respectivamente (Ramírez- Martínez, 2014). Para los agricultores, las plagas de almacén son un problema relevante, ya que dañan el rendimiento, la calidad fisiológica del grano y su valor nutritivo, disminuyendo el valor comercial, lo que afecta de manera directa a los ingresos, poniendo en riesgo la seguridad alimentaria de los productores y de sus familias.

2.6.3. Sistemas de almacenamiento

Existe una gran gama de sistemas de almacenamiento. Comúnmente, los agricultores de escasos recursos recurren a sistemas de almacenamiento improvisados, mientras que algunos otros con mayor capacidad adquisitiva recurren a tecnologías de almacenaje más especializadas; sin embargo, la elección del sistema depende de los siguientes factores.

- El tipo de producto (maíz, sorgo, trigo, etc.)
- Los métodos de manejo (granos ensacados o a granel)
- Las instalaciones que ya existen
- El costo y la disponibilidad financiera
- La mano de obra disponible
- La cantidad de grano que se quiera almacenar

Bajo el esquema de la agricultura familiar los sistemas más utilizados por productores rurales de escasos recursos son las trojes, almacenamiento en costales de rafia, tambores metálicos o silos metálicos de baja capacidad (FAO, 1993).

Almacenes para maíz en mazorca

Trojes

La troje es una suerte de cabaña construida de tablones gruesos de madera, generalmente de oyamel en el estado de Michoacán. Los tablones son colocados horizontalmente sobre un marco levantado del piso, el cual a su vez está colocado

sobre una cimentación de piedra. Especialmente, consiste en una habitación cuadrada o rectangular y un tapanco utilizado para el guardado de maíz. El tamaño es variable dependiendo de la cantidad de mazorcas por almacenar; sin embargo, se estima que se pueden almacenar hasta 450 kg de maíz (Ettinger, 2015; FAO, 1993).

Contenedores metálicos para granos de maíz

Tambor metálico

Los tambores metálicos comúnmente utilizados para el almacenamiento de aceite con capacidades de 200 L son muy fáciles de adquirir y representan alternativas económicas para el almacenamiento de cantidades pequeñas de granos. Estos recipientes conservan de buena manera los granos durante periodos de tiempo relativamente largos, siempre y cuando se lleve un manejo correcto. Generalmente, estos contenedores son modificados por los agricultores para impedir la entrada de O₂ al sistema; es posible conseguir contenedores metálicos con cerrado hermético (mediante una tapa con cinta hermética de cerrado) (FAO, 1993).

Silo metálico

Los silos metálicos son estructuras cilíndricas con tapa cónica, construidas con láminas de metal galvanizado. Estas láminas son ensambladas a partir del amalgamiento de los bordes, los cuales se sellan con soldadura por la parte externa del silo, permitiendo que el cerrado del silo sea hermético y no exista intercambio de oxígeno. Estos contenedores presentan diferentes diseños dependiendo de la cantidad de granos que se almacenen; la FAO ha aprobado y validado el uso de esta estructura para el almacenaje de granos en diversos países en vías de desarrollo (FAO, 2014).

Los silos herméticos han sido probados bajo diversas condiciones de producción y clima. En 1999 el Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) evaluó el silo hermético para control de plagas de granos almacenados en ocho comunidades de los Valles Centrales de Oaxaca. Los resultados fueron

satisfactorios y constituyeron la base para difundir esta tecnología al resto del estado (Aguirre *et al.*, 2000).

2.6.4. Problemáticas durante el periodo pos cosecha

Los granos de maíz presentan diversas enfermedades y daños en el periodo post cosecha, las cuales provocan baja productividad y representan un factor en contra de la utilización de variedades criollas y nativas, puesto que, al bajar la viabilidad y vigor de la semilla, el productor ha optado por adquirir semillas comerciales que garantizan una mejor producción. Los organismos causantes de enfermedades en el cultivo del maíz son muy variados e incluyen diversas especies de hongos, bacterias, virus e insectos, iniciando el proceso de invasión por la presencia de daños físicos que derivan en infecciones desde el endospermo del grano hacia el embrión (León- Torres, 2017).

Plagas

Se define como una plaga a cualquier especie, raza o biotipo vegetal o animal, o agente dañino para las plantas o productos vegetales (NIMF, 2016). Las plagas son capaces de infectar el maíz en cualquiera de las etapas de desarrollo y durante el almacenamiento, atacando cualquier parte de la planta. En esta etapa, las plagas se asocian a la presencia y aparición de enfermedades que conllevan riesgos sanitarios como los hongos y/o toxinas (García- Lara *et al.*, 2007). Las plagas más comunes en el maíz de almacenamiento pertenecen al *Phylum Artrópoda*, entre los cuales se pueden encontrar tanto arácnidos como insectos. Las plagas como el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) y la polilla de los cereales (*Sitotroga cerealella*), se asocian a la presencia de hongos como *Aspergillus niger* o *A. flavus* (Rodríguez y Herrera, 2003). En México, existen más de veinticinco especies de insectos de importancia económica, que atacan semillas y granos almacenados; de los cuales quince especies pertenecen a los órdenes Coleóptera y Lepidóptera (Moreno, 1996).

Contaminación por hongos

Otro aspecto de relevancia a considerar en el almacenamiento de maíz es la contaminación por hongos. Las especies de hongos de mayor relevancia en los

almacenes de maíz son las pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* (García-Lara *et al.*, 2007). La incidencia por hongos es provocada principalmente por la humedad, tanto del grano mismo como del ambiente del almacén. Los hongos disminuyen la cantidad y calidad alimenticia y comercial de grano; en el caso de la semilla, el poder de germinación y el vigor. En ocasiones, las sustancias producidas por el metabolismo de los patógenos, resultan tóxicas para el humano y los animales que lo consumen (D´mello, 2003).

Los daños en los granos de maíz por estas especies fúngicas pueden ser de naturaleza bioquímica y estructural (pigmentación, decoloración, pudrición, hedor o mal sabor); sin embargo, las pérdidas en la producción de maíz relacionadas con la contaminación por hongos involucran daños como la reducción del poder germinativo, ennegrecimiento parcial y total; y por lo tanto la pérdida de viabilidad de la semilla (Bhattacharya y Raha, 2002).

En México, existe la reglamentación NMX-FF-034-1995 para productos alimenticios no industrializados, cereales y maíz (*Zea mays* L.), que clasifica los niveles máximos de daño en los granos de maíz. Los daños por hongos son incluidos en el parámetro de suma de daños. Esta norma clasifica la calidad del grano en cuatro categorías, las cuales se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Especificaciones de los porcentajes de daño en maíz en la NMX-FF-034-1995.

Parámetros	México 1	México 2	México 3	México 4
Densidad (Kg/hl) (%Mínimo)	72	71	70	66
Impurezas (% Máximo)	1	2	3	4
Daños por calor (% Máximo)	1	2	3	4
Granos quebrados (% Máximo)	2	3	5	7
Suma de daños (% Máximo)	3	5	7	10

2.7. *Aspergillus spp.*

Los hongos pertenecientes al género *Aspergillus* son organismos filamentosos pertenecientes al orden de los Eurotiales y la familia Trichocomaceae, son mitospóricos y se caracterizan por la producción de hifas especializadas denominadas conidióforos, sobre los cuales se encuentran las estructuras que darán origen a las esporas asexuales (conidios); el conidióforo de *Aspergillus* es una de las características taxonómicas más importantes del grupo, es una estructura unicelular; sin embargo, posee tres partes bien diferenciadas: vesícula, conidióforo y la célula pie. Sobre la vesícula se encuentran las células generadoras de conidios llamadas fiálides, dependiendo de la especie se pueden encontrar otras células intermedias a la vesícula y la fiálide llamadas métulas (Figura 1) (Rodríguez *et al.*, 2007; Abarca, 2000).

Los hongos pertenecientes al género *Aspergillus* contaminan principalmente semillas y otros productos agrícolas como los ensilados; se presentan en los almacenes transportados por insectos o por esporas que se quedaron adheridas a los granos en la cosecha.

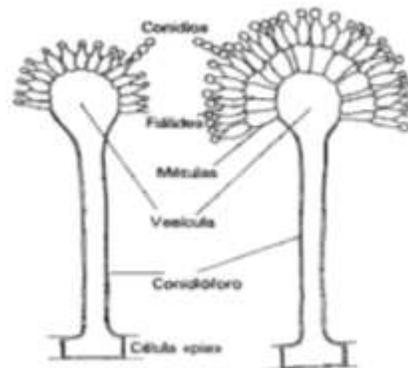


Figura 1. Morfología de las estructuras sexuales del género *Aspergillus*

2.8. *Penicillium spp.*

Las especies incluidas en este grupo se distribuyen por todo el mundo y son consideradas saprófitas; se les encuentra generalmente asociadas a alimentos, en el suelo o en materia en descomposición (Pitt, 1985). La estructura que caracteriza morfológicamente a este grupo de hongos es su conidióforo en forma de pincel, los conidios se presentan en hileras lineales (fiálides), el conidióforo es hialino y se une

al micelio por medio del estipe, entre éste y las fiálides pueden aparecer diferentes células las cuales están agrupadas y parten desde el mismo punto de origen. La célula que da soporte a la fiálide se denomina métula y la que sostiene a esta se denomina rama, estas ramas parten de la estipe, aunque pueden partir también de otras ramas (Figura 2) (Martínez, 2004).

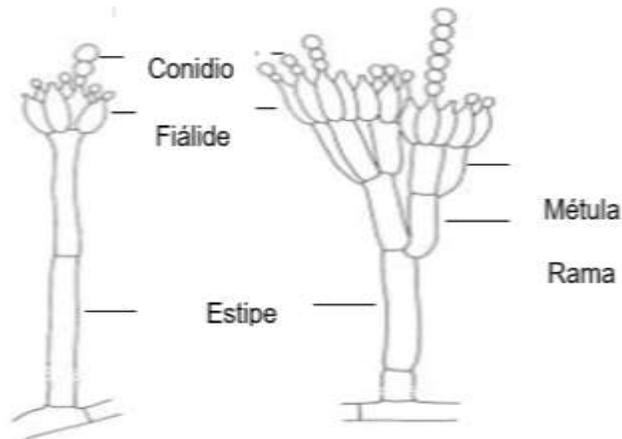


Figura 2. Morfología de las estructuras sexuales del género *Penicillium*

2.9 Micotoxinas

Las micotoxinas son compuestos químicos producidos por hongos filamentosos que se asocian con efectos deletéreos en los alimentos, la salud animal y la humana (D'mello, 2003). Estas toxinas de origen fúngico son producto del metabolismo secundario de los hongos y se estima que existen más de 300 micotoxinas diferentes. Algunas de las más estudiadas se encuentran detalladas en la Tabla 2; aunque no se sabe con precisión la finalidad de la producción de estos compuestos, se tiene conocimiento de su utilidad como herramientas para la competencia por espacio y recursos, ya sea contra otros hongos, bacterias e incluso insectos. Las micotoxinas producidas por los hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* son las más estudiadas por los riesgos a la salud pública (Neme y Mohammed, 2017). La contaminación de los alimentos con micotoxinas puede ocurrir en campo durante el cultivo; posteriormente, cuando estos productos agrícolas son almacenados, los hongos encuentran las condiciones óptimas para la producción de las micotoxinas (temperatura, humedad y pH) (Lee y Ryu, 2017). Diversos puntos de control como la selección y desarrollo de cultivos resistentes a

la infección de hongos micotoxigénicos por selección humana o biotecnología han sido implementados para el control de micotoxinas en la agricultura; sin embargo, la vigilancia durante el proceso agrícola y el almacenamiento sigue siendo la solución más conveniente para el control de hongos micotoxigénicos y micotoxinas en granos de cereales (Frísvad, 2006).

Tabla 2. Principales micotoxinas, hongos que las producen y alimentos que contaminan (Neme y Mohammed, 2017)

Grupo	Micotoxinas	Alimentos que contamina	Hongo productor
Aflatoxinas	Aflatoxina B1,B2	Cereales, cacahuates, frutos secos	Aspergillus spp.
Fumonisinias	FB1 y FB2	Maíz, trigo , cebada, cerveza	Fusarium spp.
Ocratoxinas	OTA, OTB, Ota	Cereales, uvas, frutos, café, chocolate vinos y cervezas	Aspergillus spp. Penicillium spp.
Tricotecenos	Toxina T2 Deoxinivalenol (DON) Diaceloxisciprenol (DAS)	Principalmente maíz, también en trigo y sorgo	Fusarium spp.

2.10. Ocratoxina A

La ocratoxina A (OTA) es una micotoxina de importancia médica y agronómica, es una molécula formada por un anillo de 3,4-dihidrometil-isocumarina unido por medio de su grupo carboxilo y través de un enlace tipo amida a una molécula de fenilalanina (Figura 3).

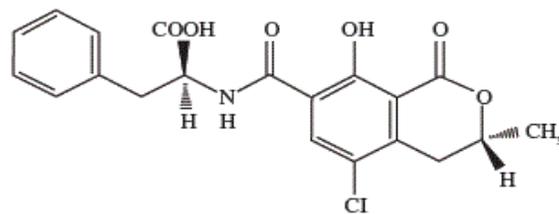


Figura 3. Estructura química de la ocratoxina A

Esta micotoxina fue encontrada por primera vez en muestras de harina de maíz africanas (Ravelo et al., 2011). Es un compuesto cristalino, incoloro con un peso molecular de 404 y su excitación con luz UV produce fluorescencia. La OTA es también una molécula termoestable, por lo que no se desnaturaliza aun a temperaturas superiores a los 160°C, lo que vuelve difícil su degradación en los alimentos que contamina (Malir et al., 2016)

2.11. Alimentos con presencia de OTA

Los cereales como maíz, trigo, sorgo y cebada, se encuentran entre las principales fuentes de alimento para el humano, por esta razón se cree son la principal fuente de ingesta de OTA para el hombre, tanto directamente como en productos elaborados con cereales contaminados (Ravelo *et al.*, 2011). No obstante, la presencia de OTA se ha reportado en granos de café verde, carne (principalmente de cerdo), uvas, vino, pasas, higos secos, chocolate, legumbres, cerveza y especias. Sin embargo, en el caso de estos alimentos, a diferencia de los cereales, no constituyen fuentes dietéticas importantes, sólo en caso de altas ingestas (Duarte *et al.*, 2009). Otras fuentes no convencionales de OTA son el té, las infusiones, el regaliz, el aceite de oliva y los alimentos infantiles a base de cereales, así como los frijoles, la soya, las nueces, los frutos secos y los jugos (Studer-Rohr *et al.*, 2000; Shephard, 2008).

2.12. Aspectos Tóxicos de OTA

La OTA es una micotoxina con acción neurotóxica, inmunosupresora, genotóxica, carcinógena y teratogénica. Esta toxina se encuentra en la categoría 2B de la Agencia Internacional de Investigación Contra el Cáncer (IARC), es decir, como

posible carcinógeno humano (Ravelo *et al.*, 2011). Dicha molécula impide procesos fisiológicos en los seres vivos, produciendo perturbaciones en el metabolismo de la fenilalanina, proceso que está mediado por la inhibición de las enzimas implicadas en la síntesis de fenilalanina (Marquardt y Frohlich, 1992). La ingesta de alimentos contaminados con OTA ha sido relacionada con evidencias epidemiológicas de cáncer testicular por la formación de aductos de ADN (Keller *et al.*, 2012). En los hombres, constituye un factor determinante para el desarrollo de tumores en el tracto urinario y de la “Nefropatía endémica de los Balcanes” (Blanco *et al.*, 2007); padecimiento que presenta una gran incidencia en las regiones del sudeste de Europa: Bosnia, Serbia, Croacia, Bulgaria y Rumania (Duarte *et al.*, 2009).

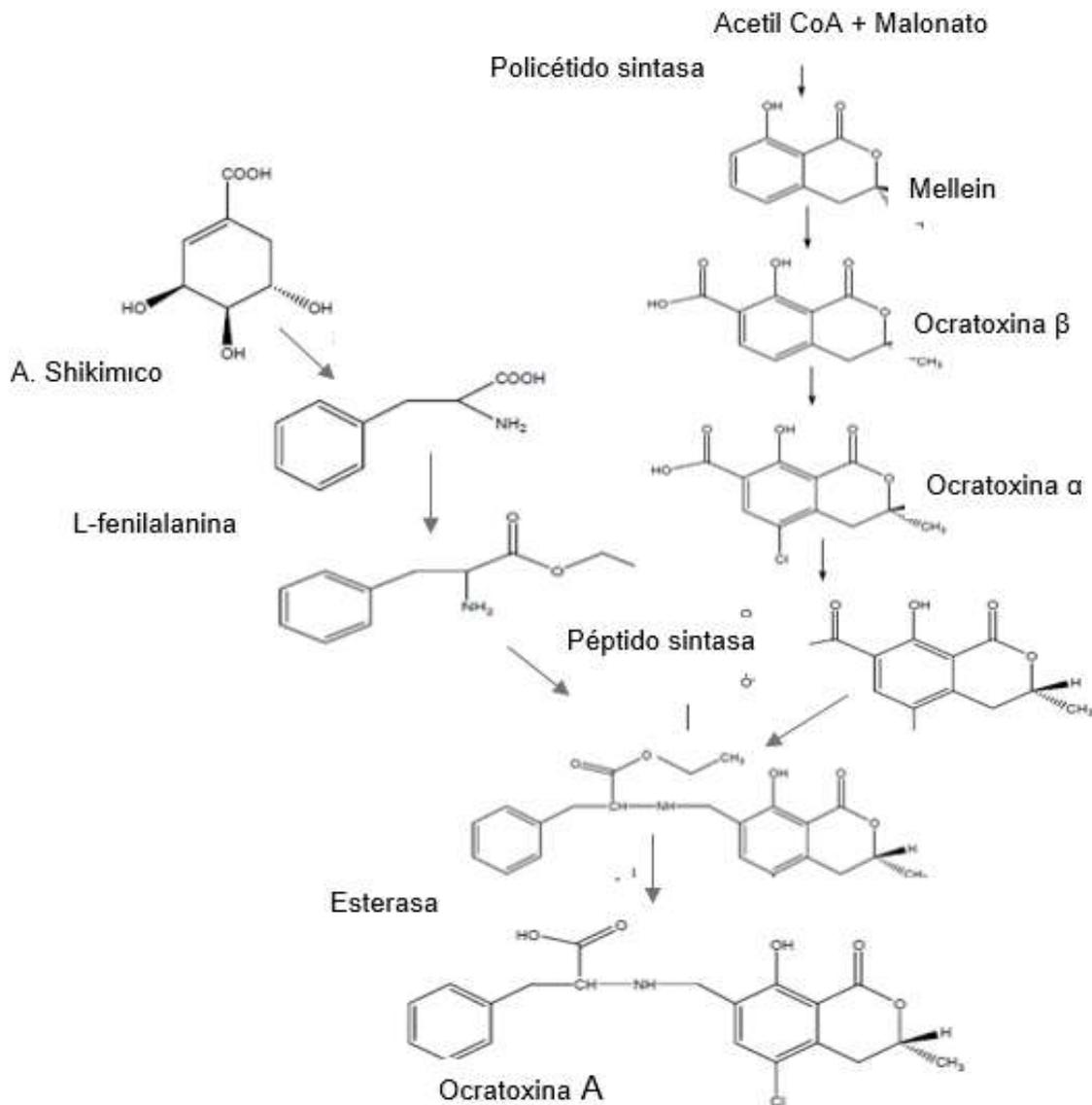
Se ha reportado la presencia de OTA en carne de aves de corral, carne de cerdo, ovinos y productos embutidos; una explicación para esto puede ser el consumo de piensos con alto contenido de OTA por parte de dichos animales. En ellos se presentan efectos nefrotóxicos, inmunotóxicos y cancerígenos, siendo los principales órganos diana para su toxicidad los riñones y el hígado (Petzinger y Weidenbach, 2002). La ocratoxina A representa una grave riesgo histopatológico en humanos, que se ha relacionado con la neuropatía túbulo-intersticial progresiva, la cual deriva en atrofia tubular y fibrosis peri glomerular, daños similares a los observados experimentalmente en animales (Coronel *et al.*, 2009). Finalmente, algunos autores apuntan que individuos en estado de malnutrición son especialmente sensibles a los efectos adversos de las micotoxinas (Blanco *et al.*, 2007; Duarte *et al.*, 2009; Stoycho, 2010).

2.13. Biosíntesis de OTA

La ruta biosintética de la ocratoxina A fue propuesta por Huff y Hamilton (1979), la cual se describe gráficamente en la figura 4. Se propone que esta ruta conlleva tres etapas: En primera instancia, la Acetil-CoA y el malonato son transformados a melleína con ayuda de una policétido sintasa a través de la ruta del acetato-malonato. La melleína es metilada y oxidada dando lugar a ocratoxina β , incorporándose también una molécula de cloro al final de este paso y dando como resultado una molécula de ocratoxina β . El segundo paso que se propone para la

ruta es la formación de una molécula de fenilalanina que se sintetiza a partir de Ácido Shikimico.

La molécula de fenilalanina se une a la molécula de ocratoxina β para formar la ocratoxina α y dar fin al tercer paso de la síntesis, en la cual se obtiene también una



molécula de ocratoxina C por acción de una sintetasa y OTA por la acción de una esterasa (Gonzáles, 2010).

Figura 4. Ruta biosintética de OTA propuesta por Huff y Hamilton (1973). Tomado de Khoury y Atoui, (2006).

2.14. Genes involucrados en la síntesis de OTA

Se conocen bien los genes involucrados en la síntesis de OTA y otros metabolitos secundarios fúngicos. Estos genes están frecuentemente organizados en agrupaciones o “clusters”, organización que fue propuesta a partir de la clonación de una secuencia que contenía genes adyacentes implicados en la síntesis de OTA en *Penicillium nordicum* (Karolewicz- Geisen, 2005). De manera general, se puede describir la estructura de estos “clusters” con la presencia de tres genes, los cuales corresponden a genes codificantes para una β -ceto sintasa (KS), una Acil-transferasa (AT) y una proteína transportadora de grupos Acil (ACP), genéricamente denominados OTApks. En diferentes especies se pueden encontrar genes para la síntesis de péptidos no ribosomales (NRPS) flanqueando a los policétido sintasa, o en ocasiones una alcalin-serin proteasa (ASP) (Gallo *et al.*, 2014; Schmidt y Geisen, 2007).

La región promotora de los genes OTApks han mostrado mucha similitud en sitios de unión presuntivos a factores de transcripción como CreA, factores de transcripción tipo “dedos de zinc” (*zinc fingers*) y otros asociados a señalización de fuentes de carbono, así como para fuentes de nitrógeno (Cys2His2 y AreA). Estas regiones se han encontrado “río arriba” del codón de inicio de la transcripción de dichas señalizaciones, así como en la región promotora del gen, lo cual ha sugerido que existe una fuerte relación entre las fuentes de carbono para el crecimiento del hongo y la producción de OTA (Gallo *et al.*, 2014).

En diversos estudios se muestra una gran homología entre los genes OTApks para los genes de *P. nordicum* y *P. verrucosum*. La homología entre genes de las especies de *A. carbonarius* y *A. nigri*, así como de *A. carbonarius* y *A. westerdijkiae* también es alta, con similitudes de hasta el 70% en la secuencia de pares de bases. Sin embargo, las similitudes entre especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* son muy bajas (Gallo *et al.*, 2014; Bogs y col, 2006).

El empleo de genes OTApks como genes diana para la detección de especies productoras de OTA puede ser un recurso no del todo adecuado, debido a que en diferentes cepas ocratoxigénicas de una especie, el gen se encuentra inactivado.

Tawakany *et al.*, (2003) reportaron que solo entre el 3 -10% de las cepas de *Aspergillus niger* producen OTA, mientras que en datos experimentales publicados por Ferracin *et al.*, (2012) se presenta un gen presuntivo *pks* en solo el 26% de las cepas silvestres productoras de Ocratoxina A, lo cual sugiere una falta de relación entre el perfil molecular y la producción de OTA.

Con relación al hecho de que existen diversas cepas dentro de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* que no presentan producción de OTA pero que contienen genes *pks* similares a las cepas ocratoxigénicas, se especula que la capacidad para producir OTA se pudo haber perdido y ganado varias veces por parte de los hongos pertenecientes a estos géneros (Gallo *et al.*, 2009).

2.15. Factores que afectan la producción de OTA

Sin duda alguna las fuentes de nutrientes, principalmente carbono y nitrógeno, son factores que influyen en el óptimo crecimiento de los hongos y por consiguiente se puede deducir que el tipo de fuente y concentración de estos nutrientes influye de manera directa en la producción de OTA (Gallo *et al.*, 2014; Ramos *et al.*, 1998).

La temperatura, el pH y la actividad de agua (A_w) son factores ambientales que han sido relacionados a la producción de OTA. Se ha reportado que la producción máxima de OTA depende de las capacidades fisiológicas de cada especie para crecer en distintas condiciones ambientales. El valor de temperatura para la producción óptima se encuentra entre el intervalo de 20 a 30°C (Esteban *et al.*, 2014; Geisen, 2004; O'Callaghan 2006). En el caso del pH, se ha reportado la producción de OTA entre los valores de 4.5 a 6 y los valores de 0.93-0.99 A_w para la actividad de agua (Arroyo *et al.*, 2005; Lahouar *et al.*, 2017). La interacción con otros hongos es un factor que ha sido menos estudiado por la complejidad que esto implica; sin embargo, se cuentan con datos experimentales de la reducción significativa en la producción de OTA por parte de *A. ochraceus* en muestras de maíz, debido a la interacción con *A. flavus* y *A. niger* (Lee y Magan, 2000). La producción de OTA por *P. verrucosum* también se ha visto influenciada por la competencia con otros hongos de deterioro de granos (Magan *et al.*, 2003).

2.16. Reglamentación sobre niveles de OTA en alimentos

A final del año 2003, un 85 % de la población mundial perteneciente aproximadamente a 100 países que signaron el acuerdo, incluyeron dentro de su legislación normas que regulan la concentración de micotoxinas en diferentes alimentos (Van Egmond *et al.*, 2004). La Comisión Europea publicó el Reglamento (CE) n° 472/2002 que fija los límites máximos de OTA en 5 µg/kg para cereales y 3 µg/kg para productos elaborados a base de cereales. El reglamento (CE) n° 1881/200639 de la Comisión Europea, modifica al anterior, ampliando la gama de productos alimenticios reglamentados por la norma anterior (Ravelo *et al.*, 2011). En México existen tres normas en donde se establece el límite máximo de Aflatoxinas en maíz para consumo humano (20 µg Kg⁻¹) y animal (de 21 a 300 µg Kg⁻¹) (NOM-188-SSA1-2002). Así mismo, se estableció el nivel máximo para masa, tortillas, harinas y tostadas de maíz nixtamalizado, siendo de 12 µg/Kg de AFs. Mientras que para tortillas de trigo, tortillas integrales y harinas de trigo es de 20 µg/Kg (NOM-187-SSA1/ SCFI-2002). En cuanto a productos lácteos y fórmulas lácteas, el máximo permitido de AFM1 es de 0.5 µg L⁻¹ (NOM-184- SSA1-2002). Sin embargo, no existe una reglamentación específica para el contenido de ocratoxina A (Robledo *et al.*, 2001)

3. Justificación

En el estado de Michoacán el 90% de los municipios cultivan diferentes variedades de maíz bajo el esquema de la agricultura familiar. Los sistemas de almacenamiento asociados a este esquema, son improvisados y en ocasiones, insuficientes para mantener la integridad de los granos almacenados. Lo anterior permite la incidencia de roedores e insectos, así como la proliferación de microorganismos como hongos y bacterias.

Los hongos filamentosos causan deterioro en los granos de maíz almacenados que incluye el ennegrecimiento, la pérdida de la viabilidad y el vigor, su pudrición y la contaminación con micotoxinas, todo lo cual se traduce en pérdidas económicas y riesgos para la salud de los consumidores de este producto.

La ocratoxina A es una micotoxina con efectos carcinogénico, nefrotóxicos, hepatotóxicos entre otros. En México no existe suficiente información acerca de la presencia de esta toxina y los hongos que la producen en ningún tipo de alimento, incluyendo al maíz. Siendo éste la base de la alimentación en el país, es importante asegurar su calidad.

Este proyecto de investigación pretende generar conocimiento de las especies productoras de ocratoxina A presentes en los granos de maíz almacenados en sistemas de producción familiar poco analizados al respecto. Se analizarán los efectos deletéreos sobre los granos causados por los hongos encontrados, así como la presencia y concentración de OTA en granos de maíz almacenado por agricultores familiares.

4. Hipótesis

Los granos de las unidades de almacenamiento de maíz de sistemas de producción familiar en Michoacán están contaminados con especies micotoxigénicas de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, y tienen altas concentraciones de Ocratoxina A, superiores a las normas europeas en la materia.

5. Objetivos

5.1. Objetivo general

- Determinar la incidencia de hongos ocratoxigénicos y la presencia de OTA en muestras de maíz de almacenes de dos localidades contrastantes de Michoacán en donde se práctica la agricultura familiar y de auto consumo.

5.2. Objetivos específicos

- Determinar la calidad física y fisiológica de los granos de maíz almacenados.
- Establecer la incidencia de hongos ocratoxigénicos en el maíz almacenado.
- Cuantificar la presencia de ocratoxina A en muestras de grano de maíz almacenado.
- Comparar el desempeño de los almacenes familiares con un método de almacenaje validado.

6. Metodología

6.1 Descripción del área de estudio

6.1.1 Umécuaro

La localidad de Umécuaro se localiza en el estado de Michoacán, dentro del municipio de Morelia en la tenencia de Santiago Undameo. Esta comunidad se encuentra a una altitud de 2200 MSNM y presenta un clima templado sub húmedo con temperaturas de 5°C a los 25°C. Las principales actividades económicas en la localidad son la agricultura y la ganadería, destacando el cultivo de maíz, aunque también se presenta el cultivo de aguacate, jitomate y arándano. En el caso de la ganadería destaca la producción bovina (INEGI, 2009; INEGI, 2017).

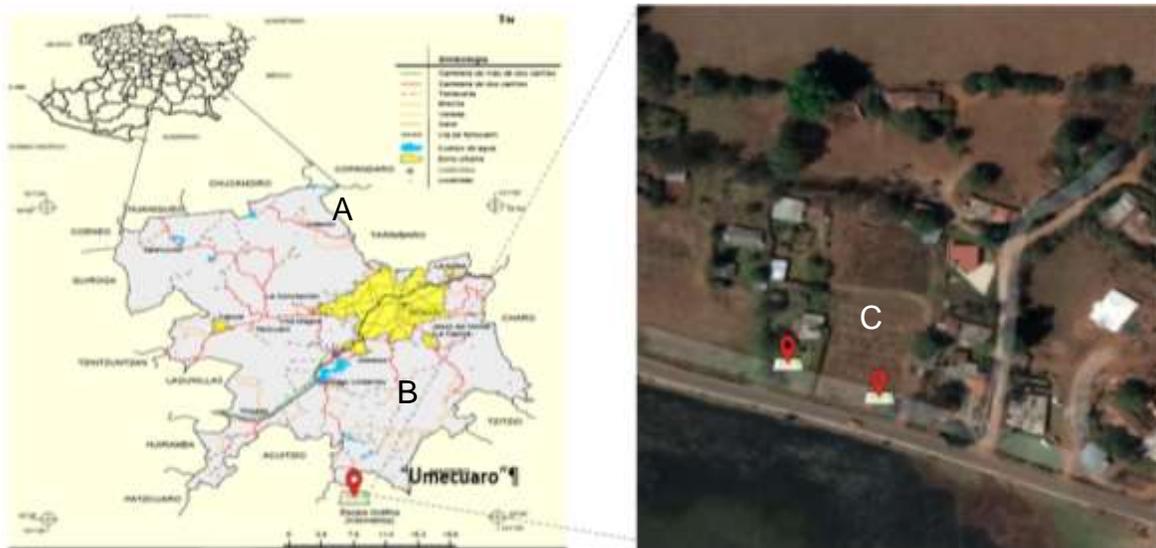


Figura 5. Ubicación de los sitios de colecta en la localidad de Umécuaro, municipio de Morelia Michoacán. (A) Municipio de Morelia, Michoacán, (B) ubicación del área de cultivo, (C) ubicación del almacén.

Los sitios de colecta en esta localidad comprenden un área de cultivo de 33.5 m x 24.5 m, situada en las coordenadas 19° 53' 37'' N y -101°25'53''. El cultivo de maíz se lleva a cabo en temporal durante el periodo primavera- verano, aprovechando las lluvias. Se cultivan dos variedades de maíz, una raza de maíz amarillo comercial la cual se utiliza para la engorda del ganado y una variedad de maíz nativo conocido como tuxpeño norteño el cual se utiliza para el autoconsumo familiar del productor. Esta raza nativa se caracteriza por mazorcas grandes, cilíndricas, de grano dentado, predominando los colores blancos, con un alto número de hileras y granos por hilera (CONABIO, 2010; Wellhausen et al., 1951). El sistema de almacenamiento se encuentra en las coordenadas 19°52'34''N y 101°25'55''O. El almacén para los granos de maíz es rudimentario, consiste en una pequeña habitación de madera de 3 x 2 m donde se almacena el maíz desgranado en costales de rafia y no se reporta el uso de producto químico para el control de plagas dentro del almacén.

6.1.2 El Zapotillo

La comunidad de El Zapotillo se encuentra entre la localidad de “El Devanador” y Tafetán, dentro del municipio de Tzitzio, Michoacán, a 41 km al sureste del municipio de Morelia. Presenta una altitud de 1001 MSNM y un clima tropical con intervalos de temperatura entre los 12°C a 37°C. Las principales actividades económicas de la localidad son la agricultura, principalmente el cultivo de maíz (INEGI, 2009b; INEGI, 2017).

Los sitios de colecta comprenden un área de cultivo de 31 m x 61 m, situado en las coordenadas 19°27'12.5" N y 100°54'46.7" W, el cual está situado en ladera de cerro. El maíz cultivado es una raza nativa conocida como tuxpeño, la cual se caracteriza por mazorcas grandes y cilíndricas con granos dentados y coloración principalmente blanca, aunque pueden presentarse en diferentes colores, con un alto número de granos por hileras (CONABIO, 2010). El cultivo de esta raza se lleva a cabo predominantemente de forma temporal y la familia productora almacena los granos en contenedores de aluminio para autoconsumo, y como semilla para el siguiente ciclo de producción. El almacenaje de los granos de maíz se lleva a cabo en una habitación dentro de la casa del productor, un cuarto de material para construcción con aplanado de cemento y techo de lámina de aproximadamente 2m x 3m. Los contenedores son de aluminio con cinta de cerrado en la tapa, se utiliza un tratamiento con fosforo de aluminio para la conservación de la semilla el cual se coloca en forma de pastilla, dentro de la unidad de almacenamiento.

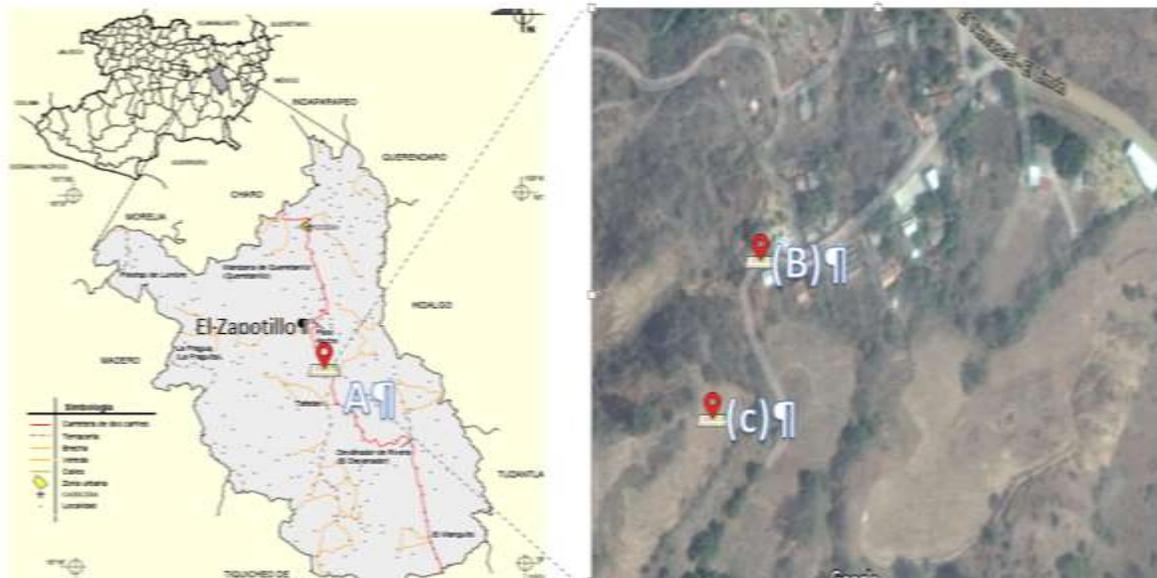


Figura 6. Ubicación de los sitios de colecta en la localidad de “El Zapotillo” municipio de Tzitzio Michoacán. (A) Municipio de Tzitzio Michoacán, (B) ubicación del área de cultivo, (C) ubicación del almacén.

6.2. Fabricación del silo metálico

Se construyó un silo metálico galvanizado siguiendo las indicaciones del manual para la fabricación de silos metálicos galvanizados de la FAO (2014). Las dimensiones del silo fueron de 1.25 m de alto por 0.79 m de diámetro y el volumen de almacenamiento fue de 500 L (Figura 7).

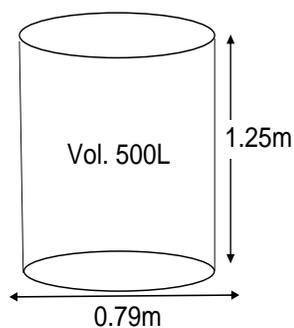


Figura 7. Dimensiones del silo metálico galvanizado.

Se proporcionó un silo a cada productor en cada una de las comunidades para referenciar como control y conocer si existen ventajas en la conservación de la calidad de las semillas, así como disminución en la aparición de hongos y el daño causado por estos.

6.3. Toma de muestras.

La toma de muestras de granos de maíz se llevó a cabo a partir del mes de noviembre del 2017 hasta el mes de julio del 2018, en ambas localidades de estudio. Durante los meses de noviembre y diciembre se tomaron muestras de mazorcas de maíz directamente de campo, previo a la temporada de cosecha. Las parcelas de cultivos se dividieron en 4 cuadrantes estableciéndose 4 transectos en cada uno de ellos. Se tomó una mazorca al centro de las líneas imaginarias de cada cuadrante, dando un total de 16 mazorcas colectadas por parcela, para cada mes, en cada uno de las localidades de estudio (Figura 8).

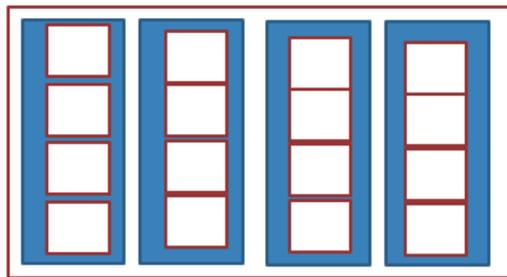


Figura 8. Toma de muestras por transecto durante el periodo Nov-Dic del año 2018.

Durante el mes de enero (periodo de secado) las muestras se colectaron de los grupos de semilla en secado al aire libre; esto se llevó a cabo dividiendo el lugar de secado de los granos en 15 cuadrantes desde una vista superior del área, como se muestra en la Figura 9. Se tomó una muestra de cada uno de los lugares marcados con "X", la cual se homogenizó en una muestra compuesta representativa del periodo de secado, esto se realizó de la misma manera para cada localidad.

A partir del mes de febrero, los granos de maíz entraron a los almacenes, tanto el del propio del productor como el del silo metálico galvanizado. Las muestras tomadas en los almacenes se sujetaron a los lineamientos de toma de muestras sugeridas en la norma oficial mexicana NOM-251-SSA1-2009 que regula el contenido de aflatoxinas en granos de maíz. Dentro de los almacenes se ajustaron las metodologías atendiendo a la distribución de las unidades de almacenamiento (Figura 10) y el tipo de unidad de almacenamiento.

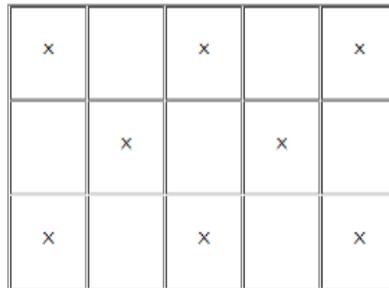


Figura 9. Diseño para la toma de muestras de cereales almacenados a granel en bodegas o almacenamientos en intemperie. Vista superior. (NOM-251-SSA1-2009).

En el caso del almacén de maíz ubicado en la localidad de Umécuaro, se utilizó la metodología para la toma de muestra de costales apilados (Figura 10B), tomando una muestra compuesta de 1.5 Kg, con ayuda de un calador de granos manual de 50 cm que se insertó al centro de los costales. En el caso de la localidad de El Zapotillo, las muestras se adecuaron al diseño de toma de muestra de contenedores (Figura 10A), con una muestra compuesta del mismo volumen descrito anteriormente. Las muestras compuestas de granos de maíz se transfirieron al Laboratorio de Desarrollo Analítico en bolsas ziploc® nuevas, previamente desinfectadas con alcohol y expuestas a luz UV por 20 min.

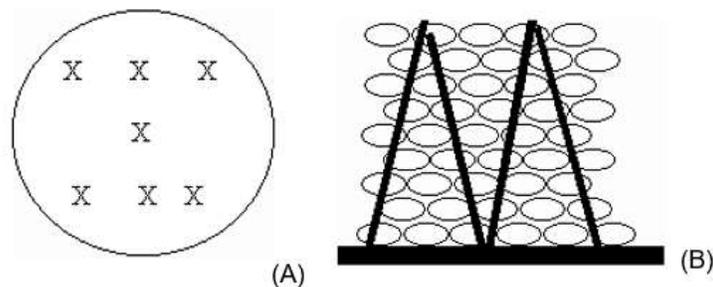


Figura 10. Metodología de toma de muestra según la NOM-251-SSA1-2009. A) Cereales almacenados a granel en silos. Vista superior. B) Cereales almacenados en costales.

6.4. Pruebas fisiológicas

6.4.1 Prueba de germinación

Las pruebas de germinación de las semillas de maíz colectadas se llevaron a cabo mediante el método de germinación en toallas de papel húmedo. Se tomaron cuatro grupos de cien semillas por muestra, las semillas se colocaron sobre charolas de unicel que contenía una cama de papel secante húmedo, posteriormente fueron acomodadas y cubiertas por otra capa de papel secante y finalmente se sellaron con plástico auto adherible para mantener la humedad. Las charolas se mantuvieron en incubación por siete días a 25°C, una vez concluido el tiempo de incubación se contó el número de semillas germinadas y se calculó el porcentaje de estas por muestra (León- Torres, 2017).

6.4.2. Prueba de vigor

Las pruebas de vigor se realizaron utilizando la temperatura como condición de estrés. Se tomaron cuatro grupos de cien semillas por muestra y se colocaron dentro de frascos de vidrio con tapa rosca; posteriormente, se colocaron durante 96 h a una temperatura constante de 40°C. Al término de dicho periodo se realizó una prueba de germinación por el método de papel húmedo descrito anteriormente y se calculó el porcentaje de germinación de cada grupo de semillas (León- Torres, 2017).

6.4.3. Determinación de daño por hongos

Para determinar el porcentaje de daño por hongos se tomaron cuatro grupos de cien semillas por muestra, los cuales se revisaron visualmente para evaluar el daño y compararlo con los patrones de la guía visual de daño fúngico de la USDA. Posteriormente se calculó el porcentaje de semillas dañadas por cada grupo (USDA, 2016).

6.5. Aislamiento de especies fúngicas

El aislamiento de especies fúngicas se llevó a cabo inoculando 10 granos de maíz por muestra en cajas de Petri con medio de cultivo Sabouraud suplementado con 5% de cloranfenicol. Los medios así inoculados se cultivaron a 25°C por 8 días,

tomando micelio de colonias bien delimitadas para su resiembra en medio de cultivo PDA con la finalidad de obtener para obtener cultivos axénicos de distintos aislados.

6.6. Identificación de aislados fúngicos a nivel de género

La identificación inicial de los aislados fúngicos se llevó a cabo mediante criterios morfológicos, tomando en cuenta las características macro y microscópicas del crecimiento micelial en caja de Petri, y con ayuda de la clave de identificación a nivel de género de Pitt y Hocking (2009).

6.7. Identificación de aislados fúngicos por métodos moleculares

6.7.1. Extracción de ADN

Para la extracción de ADN, el micelio de los hongos aislados se maceró con nitrógeno líquido. El polvo obtenido se transfirió a un tubo de micro centrifuga de 1.5 mL y se agregaron 500 µL de regulador de extracción (SDS 5%, EDTA 25mmol, NaCl 250mmol y Tris-HCl pH 8.5, 200mmol) calentado a 60 °C, agitándose en vórtex por 1 min. Los tubos se incubaron a 60°C durante 6 min, agitando 30 s en vórtex cada 2 min. Posteriormente se centrifugó a 10,000xg por 10 min y se recuperó el sobrenadante en un tubo nuevo. Se agregó un volumen igual al recuperado de fenol-cloroformo (1:1 v/v) y se agitó en vórtex de 1-3 min para volver a centrifugar a 10,000xg por 10 min. Se recuperó el sobrenadante y se agregó un volumen igual de cloroformo, agitando en vórtex por 30 s y se centrifugando como se explicó anteriormente. Al sobrenadante recuperado se le agregaron 3 µL de RNAasa incubando a 37°C por 30 min. El ADN se precipitó con el mismo volumen de isopropanol frío y se incubó a -20°C por 1h. Al término de la incubación, se centrifugó a 12 000xg por 10 min, la pastilla recuperada se lavó con etanol al 70% y se secó a temperatura ambiente, para re-suspender en 25 µL de agua destilada estéril. La integridad del ADN se analizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con un 1 µL de Syber Safe (Invitrogen, USA) obteniendo la imagen del gel en un fotodocumentador Mini Bis Pro® bajo exposición a luz UV.

6.7.2. Ensayos de PCR

Amplificación de región ITS

El ensayo de la amplificación de la región ITS (ITS1-5.8-ITS2) de la Unidad Ribosomal Nuclear de los hongos aislados se llevó a cabo utilizando el par de oligonucleótidos ITS-1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS-4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.*, 1990). La composición de la mezcla de reacción fue la siguiente: regulador Tris-HCl (10mM, pH 8.0), MgCl₂ (1.5mM), dNTP's (0.2mM de cada uno), 0.5 U de Taq DNA polimerasa recombinante (Invitrogen, USA) y 25 ng totales de ADN. El volumen final se ajustó a 15 µL con agua desionizada estéril. El protocolo de amplificación fue el siguiente: un ciclo inicial de desnaturalización a 95°C por 5 min seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 1 minuto, alineamiento a 55 °C por 1 min y extensión a 72 °C por 2 min, con una extensión final a 72°C por 10 min. Los productos obtenidos se visualizaron en geles de agarosa al 1% teñido con Syber Safe (Invitrogen, USA). Todos los productos fueron secuenciados por Elim Biopharmaceuticals, Inc. (USA).

6.7.3. Análisis de las secuencias amplificadas

Las secuencias se editaron de manera manual con la finalidad de remover los extremos en los cuales no se pueda reconocer los nucleótidos correspondientes de la secuencia. Las secuencias fueron comparadas con secuencias registradas en las bases de datos de GenBank por medio del software BLAST de comparación de secuencias (Altschul *et al.*, 1997).

6.8. Determinación de OTA en granos de maíz

6.8.1. Extracción de OTA

Las muestras compuestas de granos de maíz tomadas de periodo precosecha, secado y almacén de cada sitio de colecta, se homogenizaron con ayuda de un molino mecánico. El producto de molienda obtenido se tamizó con ayuda de un tamiz de maya #20. Se tomaron 20 g del tamizado y se le agregaron 100 mL de metanol al 70% agitando durante por 5 min. Se recuperaron 10 mL de sobrenadante y se centrifugó por 10 min a 4500xg. Finalmente, se tomó una alícuota de 1.5 mL en un micro tubo de centrifuga, la cual se mantuvo en refrigeración a 4°C hasta la cuantificación.

6.8.2. Cuantificación de OTA

La determinación de las concentraciones de OTA en las muestras se llevó a cabo mediante una prueba inmunoenzimática ELISA atendiendo a las instrucciones incluidas en el kit comercial marca Helica ® Cat. No. 9410CH01M-96, específico para la detección y cuantificación de OTA en maíz.

6.9. Determinación de la producción de OTA por parte de los hongos aislados

6.9.1. Cultivo en medio PDB

Se colocaron 50 mL de medio PDB en matraces de 250 mL y se inocularon con 6 cilindros de 0.6 mm de diámetro obtenidos con un sacabocados a partir de micelio del límite de colonias de los hongos de interés en crecimiento activo en medio PDA. Los matraces con medio así inoculados se incubaron a 28°C durante y 100 rpm de agitación durante 15 días.

6.9.2. Extracción de OTA a partir de medio PDB

El medio PDB inoculado previamente con hongos se filtró a través de papel Whatman N° 1 recuperando el medio extracelular libre de células para la extracción de Ocratoxina A, para lo cual el medio PDB recuperado se mezcló en relación 1:1 con 50 mL de cloroformo, agitándose vigorosamente durante un minuto y recuperando la fase orgánica (cloroformo) con ayuda de un embudo de separación, la fase orgánica recuperada se concentró a baño María y se almacenó en tubos falcón en refrigeración a 4°C hasta su análisis.

6.9.3. Determinación por TLC (Cromatografía en Capa Fina)

Los extractos se resuspendieron en 500 µL de metanol grado RA. Se colocaron 10 µL de cada extracto en placas cromatográficas de 10 X 20cm cubiertas con silica gel con indicador de fluorescencia Uv₂₅₄ (Machery-Magel, Alemania). La fase móvil usada fue una combinación de tolueno, acetato de etilo, ácido fórmico (5:4:1). Las placas cromatográfica fueron reveladas con luz ultravioleta a tres longitudes de onda 254nm, 302nm y 365nm. La presencia de la ocratoxina en las muestras se determinó con la comparación de un estándar de OTA. Como información adicional se utilizaron estándares de Aflatoxinas B1, G1 y Zearalenona.

7. Resultados

7.1. Calidad física y fisiológica de los granos de maíz

7.1.1 Daño asociado a hongos en los granos de maíz

En la Figura 11 se muestran los porcentajes de daño por hongos encontrados en las muestras de granos de maíz de las dos comunidades de estudio durante el periodo de cultivo (noviembre y diciembre), secado (febrero) y el periodo de almacenamiento (marzo a junio) tanto en almacenes locales como en los silos metálicos proporcionados. El promedio de daño para la localidad de Zapotillo fue de 6.57% durante el periodo de Cultivo mientras que en la localidad de Umécuaro el porcentaje promedio de daño para este mismo periodo fue de 25.6%.

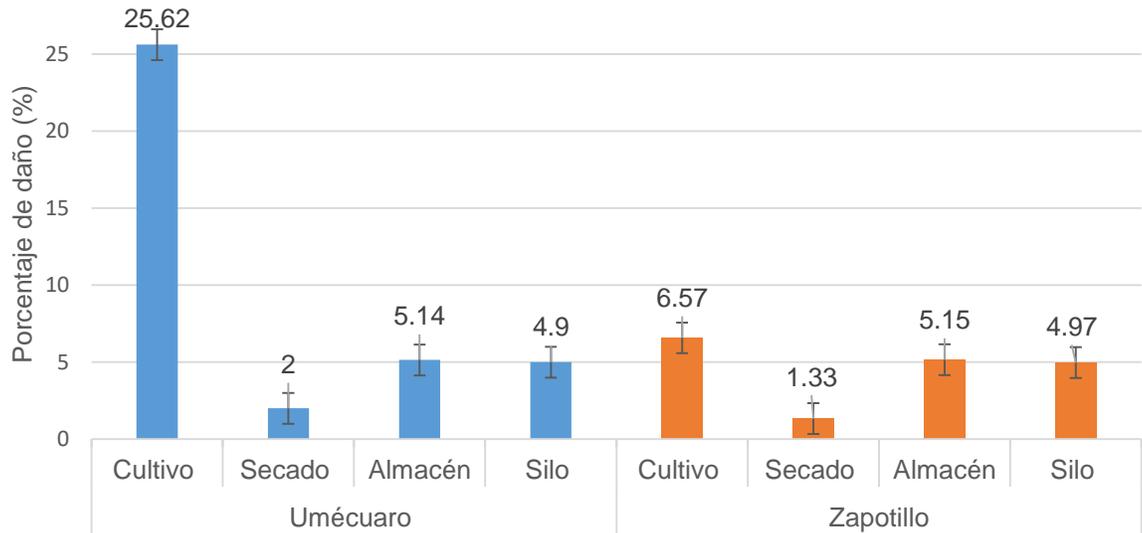


Figura 11. Porcentaje promedio de daño en los granos de maíz durante los diferentes periodos de muestreo en las dos comunidades de estudio.

En la localidad de Umécuaro se encontró un promedio de daño de 2% durante el periodo de secado de los granos, y el valor correspondiente para la localidad de Zapotillo se encontró un promedio de 1.33%.

Durante el período de almacenamiento, en la localidad de Umécuaro se encontró un promedio de daño de 5.14% en los almacenes locales de los productores familiares y 4.9% en el silo metálico proporcionado. En la localidad de Zapotillo el

promedio de daño en los almacenes locales fue de 5.15% mientras que en el silo fue de 4.97%. Los meses de diciembre (cultivo) y junio (último mes de toma de muestra) presentaron los mayores porcentajes de daño en ambas localidades, esto demuestra que el aumento del porcentaje de daño en los granos tanto en campo como en almacén aumenta en relación al tiempo.

7.1.2 Germinación de los granos de maíz

En la figura 12 se muestran los porcentajes de germinación de las semillas analizadas provenientes de ambas localidades durante los diferentes periodos de estudio. Durante el periodo de cultivo el porcentaje promedio de germinación de las semillas de maíz mayor al 90% siendo el más bajo el presentado en Zapotillo con 91.75%, en Umécuaro el porcentaje de germinación en este periodo fue de 95%. Durante el periodo de secado de los granos de maíz el porcentaje aumentó, obteniendo 97.75% de germinación en Umécuaro y 97% en Zapotillo.

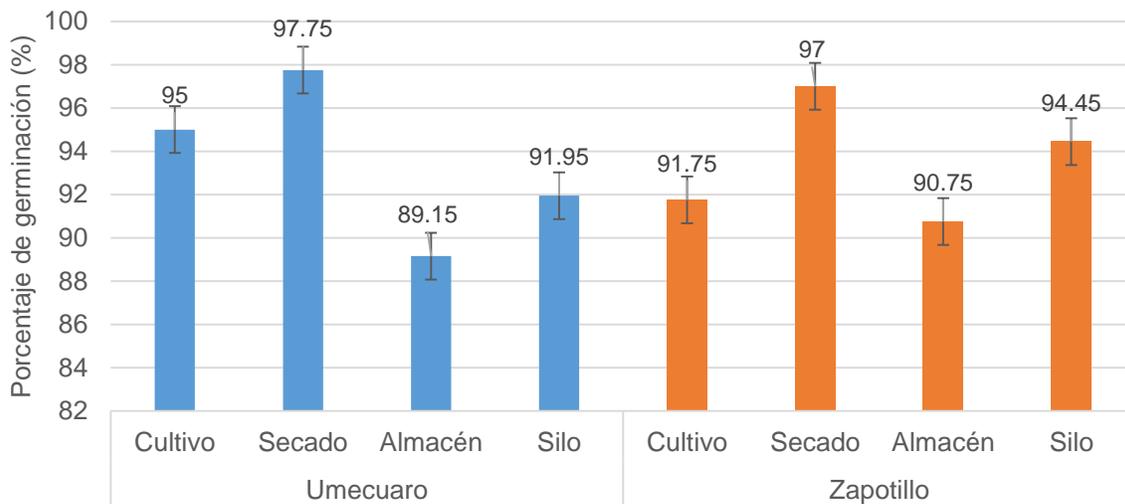


Figura 12. Porcentaje promedio de germinación de los granos de maíz.

En Umécuaro el porcentaje de germinación durante el periodo de almacenamiento fue de 89.15% en los almacenes familiares, mientras que en el silo proporcionado presento un promedio de 91.95%, en la localidad de Zapotillo el promedio de germinación fue de 90.75% en los almacenes locales y de 94.45% en los silos proporcionados.

7.1.3 Vigor de las semillas de maíz

Los valores del porcentaje promedio de vigor en la semilla se presentan en la figura 13. En la localidad de Zapotillo se encontró una germinación relacionada al vigor de 91.75%, en comparación, en la localidad de Umécuaro se presentó un porcentaje más bajo del 73%.

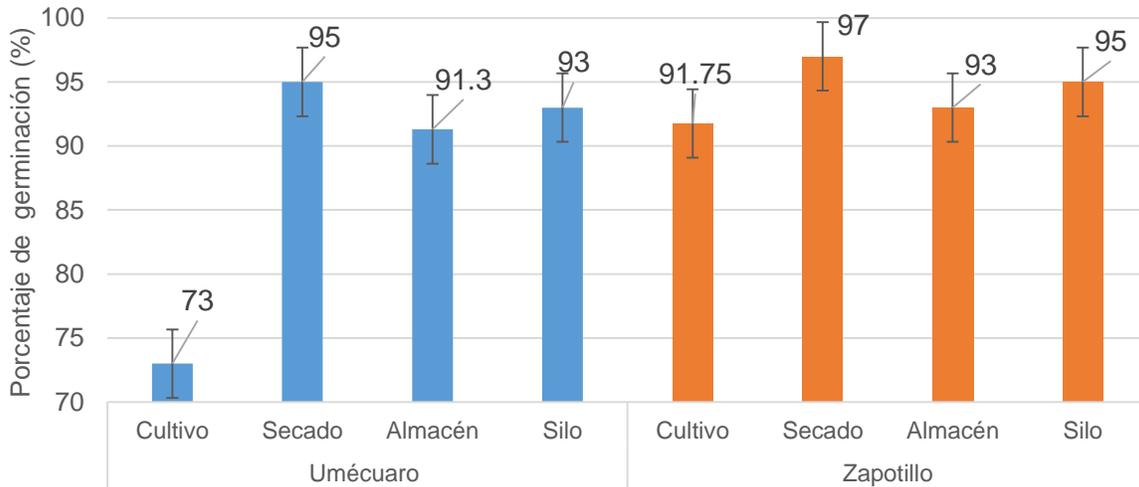


Figura 13. Porcentaje de germinación promedio relacionado al vigor de las semillas de maíz de la localidad de Umécuaro y Zapotillo.

Durante el periodo de secado se presentó un aumento en el vigor, encontrando porcentajes de germinación altos para ambas localidades: 95% en la comunidad de Umécuaro y 97% para la comunidad de Zapotillo. Durante los meses del periodo de almacenamiento, el vigor de la semilla se mantuvo por arriba del 90% de germinación en ambas localidades. En Umécuaro, el promedio de fue de 91.3% en los almacenes locales, mientras en el silo metálico proporcionado, el porcentaje fue de 93%; en la localidad de Zapotillo, el promedio para los almacenes locales fue de 93%, mientras que en los silos metálicos el promedio fue de 95%.

7.2 Incidencia de hongos en los granos de maíz

El número total de aislados fúngicos obtenidos fue de 101 organismos. El análisis de las secuencias amplificadas de la región inter espaciadora de la sub unidad pequeña del ribosoma mostró las identidades de los hongos aislados como

pertencientes a los géneros *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.*, *Pichia sp.*, *Penicillium sp.*, *Stenocarpella sp.* y *Talaromyces sp.* (Tabla 3).

Tabla 3. Especies aisladas de los granos de maíz

	Aislado	Especie	Valor de E	% de identidad	Longitud de identidad	Gene bank ID
Umécuaro	2	<i>Penicillium coffeae</i> isolate NIHHS317	0	99%	527/529	KY554987.1
		<i>Penicillium phoeniceum</i> strain NIHHS501	0	99%	527/529	KY929272.1
		<i>Penicillium</i> sp. strain TC209	0	97%	515/517	MK465191.1
	6	<i>Talaromyces amestolkiae</i> isolate AC5806	0	100%	522/522	KJ413385.1
		<i>Talaromyces amestolkiae</i> strain M26	0	100%	522/522	MN086355.1
		<i>Talaromyces purpureogenus</i> isolate SR82	0	100%	521/521	MK911693.1
	7	<i>Talaromyces amestolkiae</i> strain Tala-0014	0	99.63%	538/540	KT445914.1
		<i>Talaromyces</i> sp. strain SK-S009	0	99.63%	537/539	MK368459.1
		<i>Talaromyces purpureogenus</i> isolate C47-528	0	99.63%	535/539	KJ439095.1
	9	<i>Talaromyces amestolkiae</i> isolate AC6202	0	100%	506/506	KJ413386.1
		<i>Talaromyces amestolkiae</i> isolate AC5806	0	100%	506/506	KJ413385.1
		<i>Talaromyces amestolkiae</i> strain M26	0	100%	505/505	MN086355.1
	13	<i>Penicillium</i> sp. isolate E20464	0	100%	506/506	MK267484.1
		<i>Penicillium</i> sp. isolate E20463	0	100%	506/506	MK267483.1
		<i>Penicillium</i> sp. isolate E20374	0	100%	506/506	MK267436.1
	16	<i>Penicillium</i> sp. SAF6-EGY	0	97%	565/583	KM222497.1
		<i>Talaromyces amestolkiae</i> isolate AC6202 I	0	100%	506/506	KJ650668.1
		<i>Talaromyces amestolkiae</i> isolate AC6202	0	100%	506/506	KJ413386.1

Resultados

UMSNH

19	<i>Talaromyces amestolkiae</i> isolate AC6202	0	99.81%	521/522	KJ413386.1
	<i>Talaromyces amestolkiae</i> isolate AC5806	0	99.81%	521/522	KJ413385.1
	<i>Talaromyces amestolkiae</i> strain M26	0	99.81%	520/521	MN086355.1
20	<i>Penicillium citrinum</i> strain SNB-VECD16A	0	99.61%	508/510	KX858872.1
	<i>Penicillium citrinum</i>	0	99.80%	501/502	LC106111.1
	<i>Penicillium citrinum</i>	0	99.80%	500/501	LC106119.1
21	<i>Aspergillus</i> sp. strain MS11	0	98.77%	560/567	MG551283.1
	<i>Aspergillus tubingensis</i> strain MS7	0	98.77%	560/567	MG551279.1
	<i>Aspergillus tubingensis</i> strain MS4	0	98.77%	560/567	MG551277.1
23	<i>Fusarium verticillioides</i> isolate FM15	0	100%	484/484	MK790051.1
	<i>Fusarium verticillioides</i> isolate FM14	0	100%	484/484	MK790050.1
	<i>Fusarium verticillioides</i> isolate FM4	0	100%	484/484	MK790043.1
24	<i>Penicillium citrinum</i> strain SNB-VECD16A	0	99.40%	495/498	KX858872.1
	<i>Penicillium citrinum</i> isolate S1	0	100.00%	480/480	MH892829.1
	<i>Penicillium citrinum</i> strain C2639	0	100.00%	480/480	MG575519.1
26	<i>Penicillium</i> sp. KH00312	0	98.66%	514/521	GU017519.1
	<i>Penicillium citrinum</i> strain SNB-VECD16A	0	99.60%	496/498	KX858872.1
	<i>Penicillium citrinum</i> isolate S1	0	100.00%	480/480	MH892829.1
27	<i>Penicillium</i> sp. SAF6-EGY	0	96.19%	580/603	KM222497.1
	<i>Talaromyces amestolkiae</i> strain Tala-0014	0	99.81%	526/527	KT445914.1
	<i>Talaromyces</i> sp. strain SK-S009	0	99.81%	525/526	MK368459.1
28	<i>Aspergillus flavus</i> isolate Asp-6765	0	99.64%	555/557	MF152944.1
	<i>Aspergillus flavus</i> isolate Asp-7055	0	99.64%	555/557	MF152941.1

Resultados

UMSNH

		<i>Aspergillus flavus</i> isolate Sichuan-Rfsb10	0	99.64%	555/557	KX067886. 1	
	29	<i>Pichia guilliermondii</i> isolate JHSd	0	98.07%	509/519	DQ663478. 1	
		<i>Meyerozyma guilliermondii</i> strain CRYb6	0	98.07%	508/518	MK990465. 1	
		<i>Meyerozyma guilliermondii</i> strain CRYb4	0	98.07%	508/518	MK990463. 1	
		36	<i>Talaromyces amestolkiae</i> strain Tala-0014	0	100.00%	508/508	KT445914. 1
	<i>Talaromyces</i> sp. strain SK-S009		0	100.00%	507/507	MK368459. 1	
	<i>Talaromyces amestolkiae</i> strain Tala-0014		0	100.00%	507/507	KJ650669.1	
	37	<i>Aspergillus versicolor</i> strain MF22122	0	100.00%	497/496	MH911364. 1	
		<i>Aspergillus versicolor</i> strain WZ-2008-0062	0	100.00%	497/496	KT630277. 1	
		<i>Aspergillus flavus</i> strain A0628	0	100.00%	497/496	KF577897. 1	
	38	<i>Talaromyces verruculosus</i> isolate AX2101 I	0	99.81%	531/532	KJ413368.1	
		<i>Talaromyces funiculosus</i> strain CBS 272.73	0	99.81%	530/531	MH860684. 1	
		<i>Penicillium</i> sp. isolate strain BRM046336	0	99.81%	530/531	MK461563. 1	
	42	<i>Penicillium citrinum</i> isolate MLYN-B6	0	100.00%	506/506	MG309879. 1	
		<i>Penicillium</i> sp. strain JN-GJ-3-2	0	100.00%	506/506	MG554249. 1	
		<i>Penicillium citrinum</i> strain JB-GC-3-4	0	100.00%	506/506	MG554246. 1	
	Zapotillo	8	<i>Talaromyces amestolkiae</i> strain Tala-0014	0	100.00%	524/524	KT445914. 1
			<i>Talaromyces</i> sp. strain SK-S009	0	100.00%	523/523	MK368459. 1
			<i>Talaromyces ruber</i> strain NFML_CH53_372	0	99.81%	521/522	KM458830. 1
		10	<i>Fusarium verticillioides</i> isolate FM13	0	100.00%	485/485	MK790049. 1
			<i>Gibberella moniliformis</i> strain CB1	0	100.00%	484/484	JX511973.1
			<i>Gibberella moniliformis</i> isolate FM2	0	100.00%	484/484	JF499676.1
		11	<i>Cladosporium</i> sp. isolate 18MWF13.1	0	99.39%	490/493	MN128233. 1
			<i>Cladosporium</i> sp. strain GBC-Fungus39	0	99.39%	490/493	MN077441. 1

Resultados

UMSNH

		<i>Cladosporium tenuissimum</i> strain PWF-6	0	99.39%	490/493	MK905460. 1
22		<i>Stenocarpella maydis</i> strain Sm.A1-1	0	99.61%	514/516	KP164561. 1
		<i>Stenocarpella maydis</i>	0	99.61%	514/516	FR748065. 1
		<i>Stenocarpella maydis</i>	0	99.61%	514/516	FR748064. 1
14		<i>Penicillium citrinum</i> strain SNB-VECD16A	0	99.60%	498/500	KX858872. 1
		<i>Penicillium citrinum</i> isolate S1	0	99.80%	492/493	MH892829. 1
		<i>Penicillium citrinum</i> strain C2639	0	99.80%	492/493	MG575519. 1
15		<i>Penicillium</i> sp. SAF6-EGY	0	95.53%	598/626	KM222497. 1
		<i>Penicillium purpureogenum</i> strain M-16	0	99.81%	523/524	JQ422620. 1
		<i>Talaromyces purpureogenus</i> isolate Au-XII-1.1	0	99.81%	523/524	MF475966. 1
17		<i>Talaromyces purpureogenus</i> strain ZB076	0	100.00%	513/513	KJ528885.1
		<i>Talaromyces purpureogenus</i> isolate C47-528	0	100.00%	513/513	KJ439095.1
		<i>Penicillium</i> sp. 4382	0	100.00%	513/513	EU330619. 1
18		<i>Fusarium verticillioides</i> isolate FM13	0	99.58%	477/479	MK790049. 1
		<i>Fusarium verticillioides</i> strain ITC21	0	99.58%	477/479	KY100125. 1
		<i>Gibberella moniliformis</i> strain CB1	0	99.58%	477/479	JX511973.1
22		<i>Penicillium citrinum</i> strain PW1-1	0	100.00%	496/496	MH984814. 1
		<i>Penicillium citrinum</i> strain AHF6	0	100.00%	496/496	MK530518. 1
		<i>Penicillium citrinum</i> strain KANK3	0	100.00%	496/496	MG925209. 1
31		<i>Aspergillus</i> sp. strain MS11	0	100.00%	531/531	MG551283. 1
		<i>Aspergillus tubingensis</i> strain MS7	0	100.00%	531/531	MG551279. 1
		<i>Aspergillus tubingensis</i> strain MS4	0	100.00%	531/531	MG551277. 1
34		<i>Penicillium citrinum</i> strain SNB-VECD16A	0	99.60%	503/505	KX858872. 1

		<i>Penicillium citrinum</i>	0	99.60%	498/500	LC106111. 1
		<i>Penicillium citrinum</i> isolate S1	0	99.60%	497/499	MH892829. 1
	35	<i>Fusarium verticillioides</i> isolate FM13	0	99.79%	482/483	MK790049. 1
		<i>Fusarium verticillioides</i> strain CBS 139.40	0	99.79%	481/482	MH856066. 1
		<i>Fusarium sacchari</i> strain CBS 184.29	0	99.79%	481/482	MH855037. 1
	39	<i>Penicillium citrinum</i> strain SNB-VECD16A	0	98.86%	522/528	KX858872. 1
		<i>Penicillium citrinum</i> strain KANK3	0	100.00%	506/506	MG925209. 1
		<i>Penicillium griseofulvum</i> strain 46/193/195wat	0	99.80%	508/509	KF811439. 1
	40	<i>Fusarium verticillioides</i> isolate	0	100.00%	494/496	MK790049. 1
		<i>Gibberella moniliformis</i> clone 11	0	100.00%	494/496	GU257904. 1
		<i>Fusarium verticillioides</i> isolate	0	100.00%	495/495	MK790051. 1
	41	<i>Penicillium</i> sp. isolate E20464	0	100.00%	512/512	MK267484. 1
		<i>Penicillium</i> sp. isolate E20463	0	100.00%	512/512	MK267483. 1
		<i>Penicillium</i> sp. isolate E20374	0	100.00%	512/512	MK267436. 1

La incidencia de especies fúngicas se resume en la Figura 14. Durante el periodo de cultivo se pudieron observar los porcentajes promedios más altos de incidencia de especies fúngicas, 50% en Umécuaro y 75% en la localidad de Zapotillo. El porcentaje de incidencia durante el secado se encontró más bajo a comparación con el encontrado en campo con 20% de incidencia de hongos en Umécuaro y 50% en la comunidad de Zapotillo.

En los almacenes los porcentajes de incidencia se mantuvieron aún más bajos con 38% en la localidad de Umécuaro y 32% en la localidad de Zapotillo para los almacenes locales, en el caso de los silos metálicos proporcionados la incidencia de hongos fue de 32% en Umécuaro y 30% en Zapotillo.

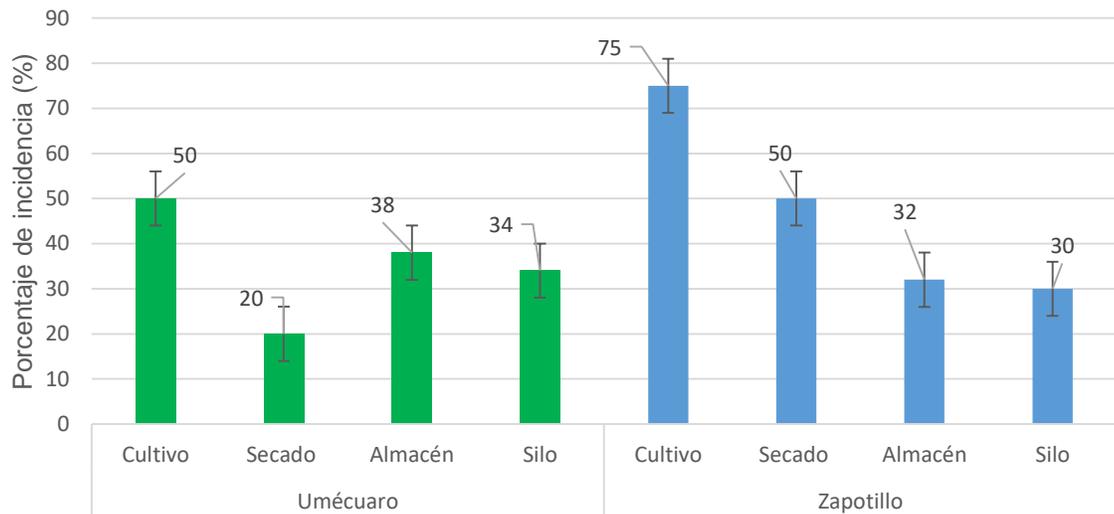


Figura 14. Promedio del porcentaje de incidencia de hongos en las localidades de estudio.

7.2.1 Incidencia de especies ocratoxigénicas en los granos de maíz

Las especies asociadas a la producción de ocratoxina A pertenecen principalmente a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*; sin embargo, el análisis Blastn de las secuencias ITS de los hongos aislados no resuelve algunas especies de *Aspergillus* y *Penicillium* que se quedan limitadas a nivel de género como *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. La incidencia de estas especies se puede observar en la Figura 15 y Figura 16. Los hongos pertenecientes al género *Aspergillus* incluyen organismos como *Aspergillus flavus*, *A. versicolor* y *Aspergillus* sp.

Aspergillus sp. se encontró en ambas localidades con los porcentajes más altos de incidencia, los cuales aumentaron hasta el 60% en el periodo de almacenamiento en ambas localidades, *A. versicolor* se encontró únicamente en la localidad de Zapotillo durante el periodo de campo y secado, pero no se volvió a aislar durante el periodo de almacenaje. Durante el periodo de almacenamiento en silos solo se encontró la presencia de *Aspergillus* sp. No se encontró presencia de *A. flavus* ni *A. versicolor*.

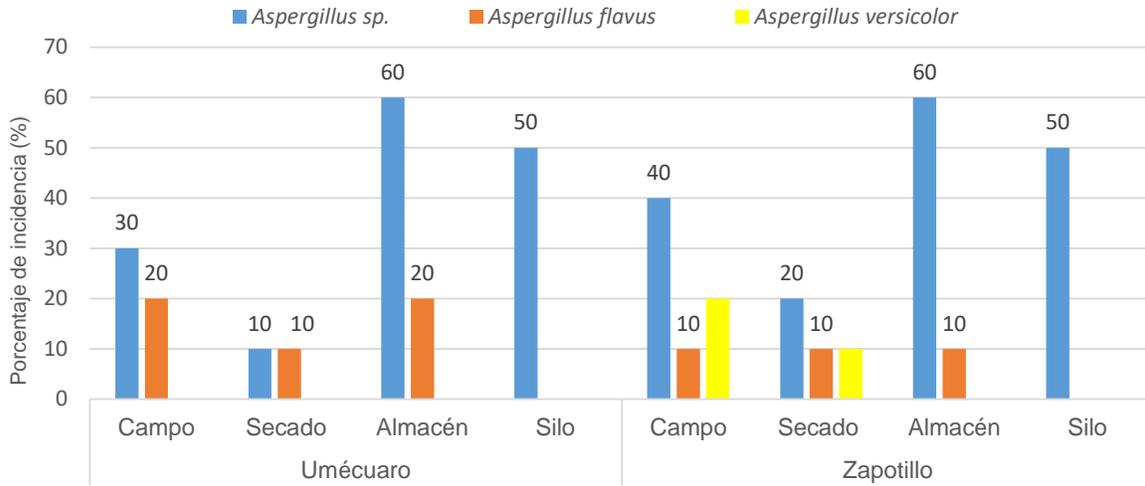


Figura 15. Incidencia de especies fúngicas pertenecientes al género *Aspergillus* asociadas a los granos de maíz en las localidades de estudio.

La incidencia de especies pertenecientes al género *Penicillium* se muestra en la Figura 16. Las especies de este género reportadas en este estudio fueron *Penicillium coffeae*, *P. citrinum* y *Penicillium sp.*, en la localidad de Umécuaro y *Penicillium citrinum*, *P. purpurogenum* y *Penicillium sp.*, en la localidad de Zapotillo.

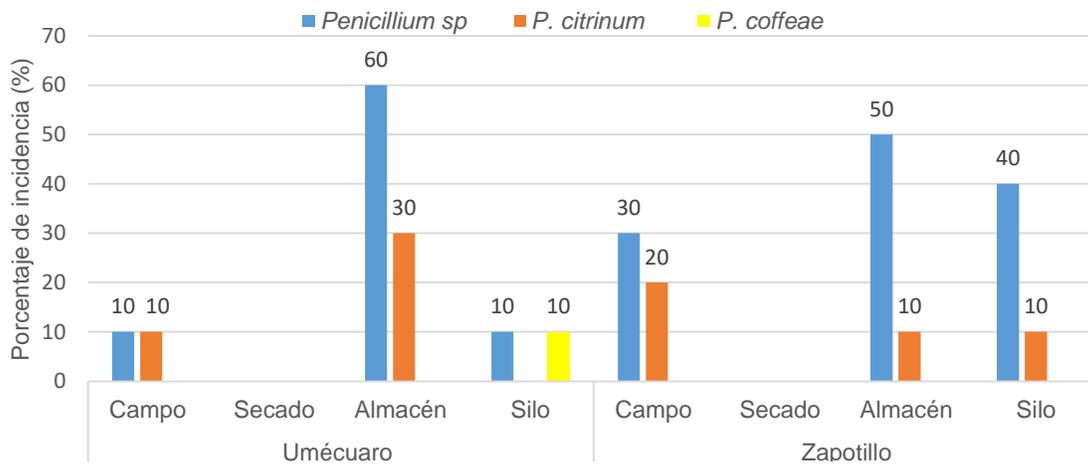


Figura 16. Incidencia de especies fúngicas pertenecientes al género *Penicillium* asociadas a los granos de maíz en las localidades de estudio.

Penicillium sp., presenta la mayor incidencia en ambas localidades alcanzando el 60% de incidencia en los almacenes de Umécuaro y 50% en el periodo de

almacenamiento en Zapotillo, la incidencia de *P. citrinum* se mantiene baja durante la temporada de cultivo y secado y aumenta en el periodo de almacenamiento los almacenes locales de la comunidad de Umécuaro, en comparación con Zapotillo donde se mantiene alto durante la temporada de campo y disminuye su incidencia en el periodo de almacenamiento.

7.2.2 Incidencia de otras especies asociadas a los granos de maíz

El género *Fusarium* es uno de los principales contaminantes en los cultivos de maíz, así como de los almacenes de este grano. En la Figura 17, se muestra el porcentaje de incidencia de este hongo a lo largo de este estudio. *Fusarium verticilloides* fue la única especie encontrada del género. La incidencia durante el periodo de cultivo se mantuvo con valores de 30% en Umécuaro y 40% en Zapotillo, estos valores disminuyeron durante el periodo de secado hasta el 10% de incidencia en ambas comunidades, pero los valores aumentaron durante el periodo de almacenamiento; sin embargo, estos no alcanzaron los valores mostrados en cultivo.

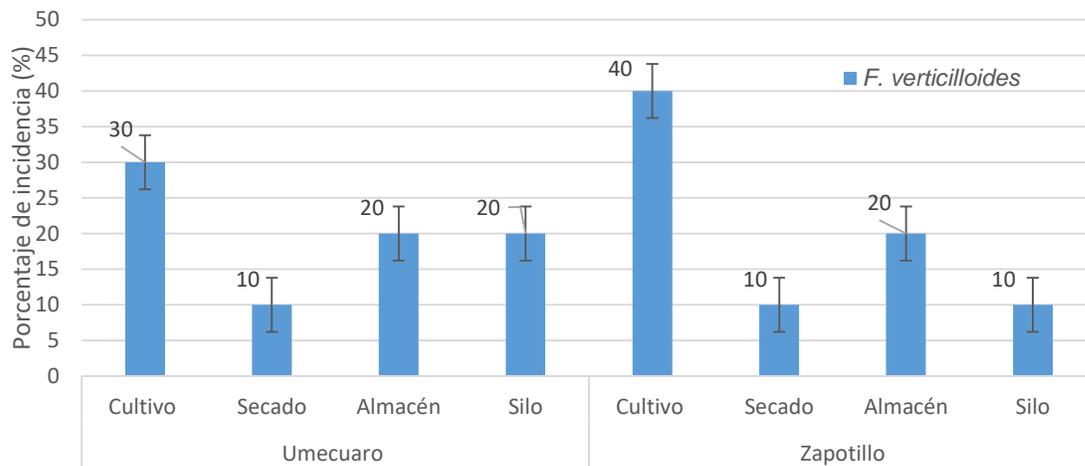


Figura 17. Incidencia de *Fusarium verticilloides* en los granos de maíz en ambas localidades de estudio.

En la Figura 18 se muestran las especies encontradas en los granos de maíz pertenecientes a los géneros *Pichia*, *Talaromyces* y *Stenocarpella*. En la localidad de Umécuaro solamente se reportó la presencia de aislados de *Talaromyces amestolkiae* y el género *Pichia* sp.

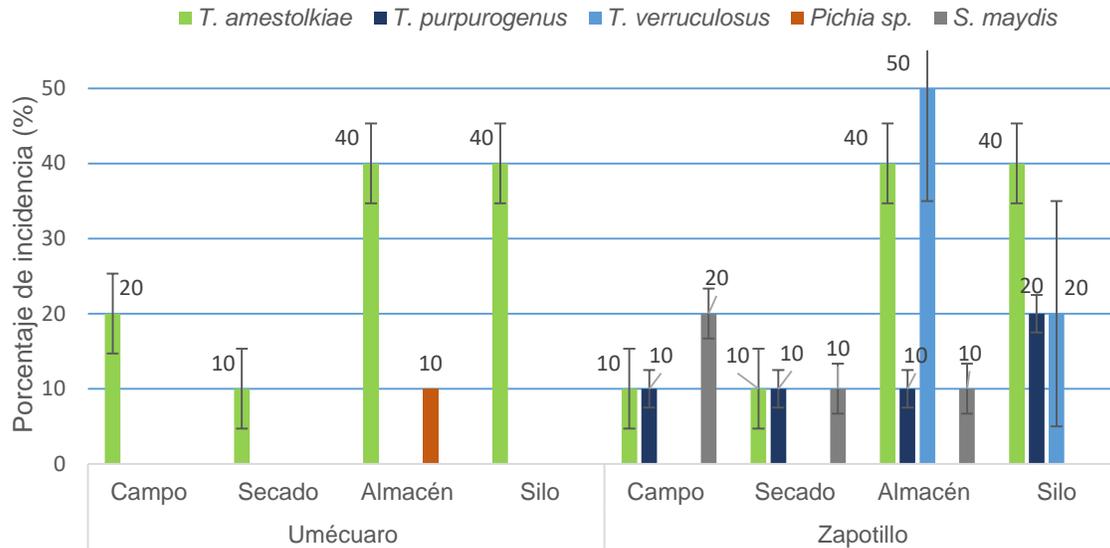


Figura 18. Incidencia de *Talaromyces* spp., *Sternocarpella maydis* y *Pichia sp.* asociados a los granos de maíz en las localidades de estudio.

El aislado *Pichia sp.* fue encontrado solamente durante el periodo de almacén con una incidencia en los granos de maíz del 10%, mientras que *Talaromyces amestolkiae* se presentó durante todos los periodos de estudio y los valores de incidencia más altos los presentó en el periodo de almacenamiento.

En la localidad de Zapotillo, *T. amestolkiae* se presentó en todos los periodos de estudio con un porcentaje de incidencia igual al de Umécuaro en el periodo de almacenamiento. *T. purpurogenus* también se encontró en todos los periodos de estudio; sin embargo, se mantuvo estable con incidencias del 10% en todos los periodos de estudio excepto en el silo metálico donde la incidencia fue del 20%. *T. verruculosus* se presentó solamente en el periodo de almacén con la incidencia de 50% en los almacenes locales y una incidencia de 20% en los silos metálicos. *Sternocarpella maydis* se presentó desde el periodo de campo con una incidencia de 20%, durante el periodo de secado se presentó con 10% de incidencia en los granos al igual que en los almacenes de los productores locales, durante el almacenamiento en silo metálico no presentó incidencia.

7.3 Producción de ocratoxina A y otras micotoxinas por especies aisladas de los granos de maíz

La producción de ocratoxina A por las especies aisladas de las comunidades de Umécuaro y Zapotillo se muestra en la tabla 4. De los aislados provenientes de la localidad de Zapotillo, solamente hubo un aislado con producción positiva de OTA, proveniente de los almacenes locales, correspondiente a *Talaromyces amestolkiae*. La producción de OTA por este aislado se detectó a una longitud de onda de 365 nm.

Tabla 4. Producción de OTA por especies fúngicas aisladas de los granos de maíz.

Muestras		254 nm				302 nm				365 nm			
		Ze a	AFB I	AFG 1	OT A	Ze a	AFB I	AFG 1	OT A	Zea	AFB I	AFG 1	OT A
Zapotillo	<i>A. flavus</i>					X	X				X	X	
	<i>T. amestolkiae</i>											X	X
	<i>A. flavus</i>										X		
	<i>Penicillium</i> sp.										X		
	<i>P. citrinum</i>										X		
Umécuaro	<i>F. verticillioides</i>	X											
	<i>P. citrinum</i>								X				
	<i>Aspergillus</i> sp.						X				X		
	<i>A. versicolor</i>						X						
	<i>Aspergillus</i> sp.								X		X		
	<i>Penicillium</i> sp.										X		
	<i>T. amestolkiae</i>							X	X		X	X	
	<i>Aspergillus</i> sp.							X	X		X	X	

Los aislados provenientes de la localidad de Umécuaro en los que se detectó la producción de OTA corresponde a *Aspergillus* sp. aislado de silo metálico; *P.*

citrinum y *T. amestolkiae* aislados de almacenes familiares a una longitud de onda de 302 nm, corroborando la detección de la producción de OTA por *T. amestolkiae* y *Aspergillus* sp. a una longitud de onda de 365 nm.

En la localidad de Zapotillo también se pudo encontrar la producción de Aflatoxina B1 y Aflatoxina G1 por parte de un aislado correspondiente a la especie *Aspergillus flavus* aislada de los almacenes familiares, la cual se encontró a 302 nm de longitud de onda. En la comunidad de Umécuaro se encontró la producción de zearalenona por parte de un aislado correspondiente a *F. verticilloides* por un aislado de los almacenes familiares, a una longitud de onda de 254 nm.

7.4 Determinación de OTA en semillas de maíz

El análisis de los granos de maíz mostro la presencia de Ocratoxina A en el 100% de las muestras analizadas en ambas localidades.

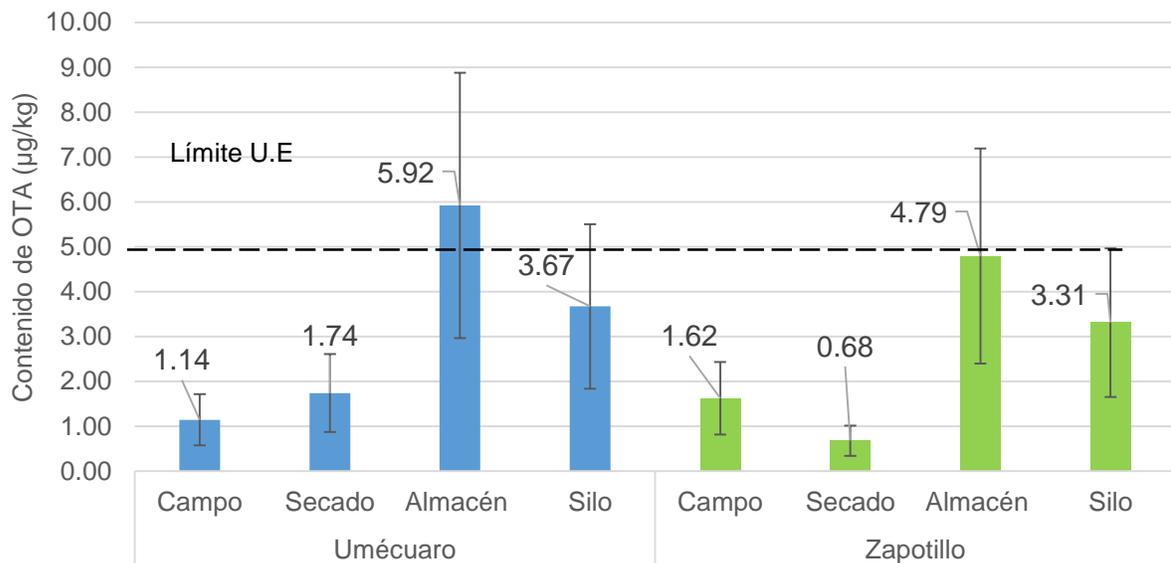


Figura 19. Incidencia de OTA en las muestras de granos de maíz

La concentración promedio de OTA en la localidad de Umécuaro durante el periodo de campo fue de $1.14 \pm 0.41 \mu\text{g/kg}$, durante el periodo de secado la concentración promedio fue de $1.74 \mu\text{g/kg}$ y finalmente la concentración en el periodo de

almacenamiento fue de 5.92 ± 4.88 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en los almacenes locales y 3.67 ± 2.36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en el silo proporcionado.

El contenido promedio de OTA en la localidad de Zapotillo fue de 1.62 ± 1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en el periodo de campo, en el periodo de secado la concentración promedio fue de 0.68 $\mu\text{g}/\text{kg}$, en el periodo de almacenamiento la concentración promedio en los almacenes locales fue de 4.79 ± 3.44 $\mu\text{g}/\text{kg}$, mientras que en los silos proporcionados se encontró una concentración de 3.31 ± 2.41 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Durante el periodo de almacenamiento en los almacenes locales de la comunidad de Umécuaro, el promedio de concentración de OTA fue de 5.92 $\mu\text{g}/\text{kg}$, este valor supera los límites de contenido de OTA en granos de maíz propuestos por la Unión Europea.

7.5 Comparación de los sistemas de almacenamiento locales y un sistema de almacenamiento estandarizado (Silo metálico galvanizado)

7.5.1 Comparación de la conservación de las características físicas y fisiológicas de los granos de maíz

Daño asociado a hongos

Durante el periodo de almacenamiento de los granos se observó menor porcentaje de daño en los silos herméticos metálicos de ambas localidades. De acuerdo con la prueba de comparación de medias (Anexo, Tabla 5), no existen diferencias significativas entre los niveles de daño en los sistemas de almacenamiento contrastados en ninguna de las dos localidades con valores de significancia, Sig. 0.832 para la localidad de Umécuaro y sig. 0.393 para la localidad de Zapotillo. Las diferencias del porcentaje de daño entre los sistemas de almacenamiento fueron menores al 1% en ambas localidades de estudio.

Germinación

Las diferencias entre los sistemas de almacenamiento locales y los silos metálicos proporcionados en la localidad de Umécuaro fue de 2.9%, mientras que en la comunidad de Zapotillo fue de 3.7%. La prueba de t de student para la comparación

de las medias del porcentaje de germinación en los sistemas de almacenamiento (Anexo, Tabla 6), muestra que no existe diferencia significativa en los porcentajes de germinación de las muestras de Umécuaro y Zapotillo (sig. 0.353 y 0.074 respectivamente).

Vigor

En el caso del vigor los silos metálicos permitieron conservar un mayor porcentaje de germinación relacionada al vigor, en la localidad de Umécuaro se puede apreciar una diferencia de 1.7% con respecto a los sistemas locales de almacenaje, en el caso de la localidad de Zapotillo se puede apreciar una diferencia de 2%, aunque estadísticamente estas diferencias no son significativas como se muestra en la Tabla 7 (Anexo).

7.5.2 Comparación de la incidencia de especies fúngicas en los sistemas de almacenamiento

La incidencia de especies fúngicas durante el periodo de almacenamiento fue más baja en los silos metálicos de ambas comunidades, en la localidad de Umécuaro hubo una diferencia de 4% en comparación con los almacenes locales, mientras que en la comunidad de Zapotillo la diferencia fue del 2%. En la Tabla 8 se enumeran las especies que se encontraron en los almacenes de las dos localidades de estudio.

Tabla 8. Prueba de t para comparación de medias del contenido promedio de OTA en ambas localidades de estudio.

	Umécuaro		Zapotillo	
	Almacén	Silo	Almacén	Silo
1	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.
2	<i>A. flavus</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>A. flavus</i>	<i>Penicillium</i> sp.
3	<i>Penicillium</i> sp.	<i>P. citrinum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>P. citrinum</i>
4	<i>P. citrinum</i>	<i>F. verticillium</i>	<i>P. citrinum</i>	<i>F. verticillium</i>
5	<i>P. coffeae</i>	<i>T. amestolkiae</i>	<i>F. verticillium</i>	<i>T. amestolkiae</i>
6	<i>F. verticillium</i>		<i>T. amestolkiae</i>	<i>T. verruculosus</i>
7	<i>Pichia</i> sp.		<i>T. verruculosus</i>	<i>T. purpurogenus</i>
8	<i>T. amestolkiae</i>		<i>S. maydis</i>	

En los almacenes familiares de la localidad de Umécuaro y Zapotillo se encontraron la presencia de 8 diferentes especies mientras que en el silo metálico de Umécuaro solo se encontraron 5 y en el de Zapotillo 7.

Las incidencias durante el periodo de almacenamiento de las diferentes especies aisladas en este estudio se muestran en las Figuras 15, 16, 17 y 18. Las diferencias más notables fueron las de *Aspergillus* sp., en ambas localidades, se encontró una diferencia de 10% en la incidencia entre los almacenes locales y los silos proporcionados. *Aspergillus flavus* no se presentó en los silos en ninguna de las dos comunidades. *Penicillium* sp. presentó una diferencia de 60% en almacenes familiares a 10% de incidencia en el silo en la localidad de Umécuaro mientras que, en Zapotillo, la diferencia fue de 50% a 40%, respectivamente, mientras que *P. citrinum* se presentó de 30% en los almacenes familiares a 20% en silos proporcionados para la localidad de Umécuaro. En Zapotillo, la incidencia de este hongo en los almacenes fue de 10% en ambos sistemas de almacenamiento.

7.5.3 Comparación de la incidencia de ocratoxina A en los sistemas de almacenamiento

Durante el periodo de almacenamiento, se pudo observar una diferencia en las concentraciones promedio de OTA entre los almacenes locales y los silos proporcionados en ambas localidades. En Umécuaro se observó una diferencia de 1.35 µg/kg de OTA, mientras que en Zapotillo fue de 1.48 µg/kg; estas diferencias se analizaron estadísticamente mediante una prueba de t de student, los resultados se muestran en la tabla 9 (anexo). Se encontró un valor de significancia de 0.431 en la localidad de Umécuaro y 0.499 en Zapotillo, indicando que no existe diferencia estadística entre los sistemas de almacenamiento locales y los silos metálicos proporcionados

8. Discusión

El daño por hongos en las semillas de maíz durante el periodo de cultivo, específicamente en las fechas cercanas a la cosecha de los granos, es comúnmente causado por diferentes especies fúngicas de los géneros *Fusarium* y *Aspergillus* asociadas a infecciones de la pudrición de la mazorca (Govender et al., 2008). Los porcentajes de daño encontrados en las comunidades evaluadas en el presente trabajo permanecen dentro de los intervalos recomendados de 5% al 10% reportados por Pingali y Pandey (2001) como límites de daño en semillas de maíz latinoamericano; sin embargo, no se reporta nada sobre el tipo de maíz y el sistema de cultivo. Según la clasificación de la calidad de maíz en la norma oficial mexicana NMX-FF-034-1995 en la que se establecen las especificaciones con las que debe contar el maíz (*Zea mays* L.) para la comercialización dentro del territorio nacional, en ambas localidades se tienen granos de maíz en categoría “México 1”. Esta es la categoría en la que el daño promedio se encuentra por debajo del 3%. Los porcentajes de daño presentados en este estudio durante el periodo de almacenamiento son más bajos que los reportados por García-Leaños et al. (2007) quienes encuentran un promedio de daño de hasta 25% en granos de maíz almacenados en sistemas locales improvisados en el estado de Guanajuato. En el estudio de Rosas et al. (2007) se reportan porcentajes de daño de hasta 45% en almacenes de maíz criollo. Aunque afuera de México, es interesante contrastar los resultados aquí encontrados con los de De Groot et al. (2013) para maíz africano proveniente de granjas con almacenes tradicionales, en donde los daños de la semilla alcanzan el 80%.

La influencia del empresas transnacionales y sus semillas mejoradas así como otros factores socioeconómicos ponen en riesgo el uso de variedades nativas de maíz en México (Bellon y Hellin, 2011; Hellin et al., 2012; McLean-Rodríguez et al., 2019), lo que hace relevante continuar el estudio de los sistemas de producción familiares y las variedades de maíz que emplean. La necesidad de los productores familiares que comúnmente se encuentran en una situación económica de pobreza ha permitido que el germoplasma de las variedades nativas se preserve mediante la agricultura de autoconsumo, el comercio local y otras estrategias desarrolladas en

las comunidades rurales e indígenas (Becerril y Abdulai, 2010; Fenzi et al., 2015; Boué et al., 2018). La selección de semillas y producción de variedades de maíz por parte de estos productores ha permitido generar las características de resistencia al daño por hongos y la acumulación de micotoxinas en las variedades nativas utilizadas (Ortega-Beltran et al., 2014). Adicionalmente, algunas de estas variedades albergan microorganismos endófitos que les permiten resistir la infección por hongos patógenos, evitando pérdidas por daño (Shehata y Raizada, 2017; Shehata et al., 2017).

En relación a los valores de germinación en ambas localidades de estudio, estos fueron bajos durante el periodo de cultivo en comparación con los demás estadios. Las especies fúngicas de los géneros *Aspergillus* y *Fusarium* y las plagas asociadas a los cultivos dañan los granos de maíz, disminuyendo su capacidad germinativa. El proceso de selección durante el periodo de secado permite encontrar un aumento en el potencial germinativo de los granos almacenados. En el almacén, los porcentajes de germinación fueron mayores a los obtenidos por González–Cortés et al. (2016), quienes reportan porcentajes de germinación de $81\pm 12\%$ en semillas de maíz criollo del estado de Guanajuato. De la misma manera, fueron más altos a los reportados por Guillen-de la Cruz et al. (2018), quienes encuentran hasta 80% de germinación de semillas de maíz criollo en el estado de Tabasco, y de Espinoza-Paz et al. (2017) con 60% en maíz criollo proveniente del estado de Chiapas. Los valores de vigor se mantuvieron altos durante el periodo de almacenamiento. En ese sentido, Guillen-de la Cruz et al. (2018) y Pérez et al. (2007) correlacionaron maíces criollos con mayor contenido de endospermo vítreo con altos porcentajes de vigor y germinación. Además, los maíces con endospermo vítreo tienen plántulas con mayor vigor, germinación y plántulas normales, lo que relaciona el endospermo vítreo con mayor vigor en comparación con el endospermo harinoso. Navarro et al. (2015) definen el vigor como la sumatoria de aquellas propiedades de las semillas que determinan el nivel de actividad y la respuesta durante la germinación y emergencia de la plántula, por lo que con base en la categoría de Aristizábal y Álvarez (2006), los niveles de germinación altos son aquellos en los que se supera el 80% de germinación de las semillas. Así, los maíces nativos de este estudio

presentaron valores de vigor altos. Adicionalmente, la descripción proporcionada por Sánchez-González (2011) indica que las variedades analizadas en este estudio presentan un alto contenido de endospermo vítreo, algo que a futuro debe de ser cuantificado. Uno de los factores comúnmente asociados al daño, la baja germinación y vigor de los granos de maíz, son los hongos, debido a que producen la pudrición del grano comúnmente atacando la parte más blanda de las semillas donde se encuentra la región germinativa (García-Leaños et al., 2007).

En términos del análisis de la comunidad fúngica asociada al maíz durante el proceso de almacenamiento en las comunidades de estudio, las especies de hongos aisladas coinciden con lo reportado en la literatura (Ekwoyadu et al., 2017; Tsedaley y Adunga, 2016; Montes et al., 2009; García-Leaños et al., 2007), siendo los géneros micotoxigénicos *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* los que se presentan en mayor incidencia. Estos tres géneros son también los más comúnmente asociados al cultivo de maíz, presentándose desde el periodo de cultivo hasta la postcosecha, almacenamiento y comercialización de los granos (Acuña et al., 2015).

Fusarium verticilloides fue la única especie aislada del género *Fusarium*. En el maíz, esta especie se encuentra comúnmente asociada a otras como *F. oxysporum*, lo cual no fue el caso en este trabajo. Al igual que en este estudio, diversos autores señalan los porcentajes de incidencia al rededor del 30% en campo y por arriba de este valor en los almacenes que no cuentan con medidas de preventivas (Montes et al., 2009; Hernández-Delgado et al., 2007). Las especies del género *Fusarium* se asocian principalmente al cultivo de maíz como organismos fitopatógenos que consiguen llegar a las mazorcas mediante la infección sistémica de la planta. La transferencia de esta especie del campo a los almacenes se realiza por varios vectores, como los insectos, los cuales transportan esporas en las vellosidades de su cuerpo, mecanismo que también utilizan otros géneros como *Aspergillus* (Padron et al., 2013). También las malas prácticas de manejo previo al almacenamiento como la falta de selección de las semillas con señales de presencia de hongos (mohos vistosos y ennegrecimiento), o el almacenamiento de granos rotos o

dañados mecánicamente, permiten que las esporas de *F. verticilloides* puedan permanecer en los granos que serán llevados al almacén (Wilke et al., 2007). Se ha documentado que las muestras de maíz con una alta incidencia de *F. verticilloides* tienen menos probabilidades de estar infestadas con *A. flavus* y viceversa, lo que muestra la alta actividad competitiva que tienen estos géneros en los sistemas de almacenamiento (Chatterjee et al., 2016) Además, se ha demostrado que ambas especies están asociadas negativamente con especies de otros géneros de hongos como *Penicillium* (Egbuta et al., 2015). Las observaciones realizadas en el presente trabajo muestran consistencia con dichos reportes previos, ya que en los periodos de almacén de los granos se presentó una mayor incidencia de *Aspergillus sp.* que de *F. verticilloides*.

En cuanto a la incidencia de especies del género *Aspergillus*, se encontró en el 53.7% del total de semillas de maíz analizadas, lo cual concuerda con el reporte de García-Leaños et al. (2007) para muestras de maíz analizadas en el estado de Tamaulipas. La amplificación de las secuencias ITS no logró resolver la identidad a nivel de especie de algunos aislados obtenidos de los granos de maíz, por lo que se sugiere el uso de otros genes como son el β -Tubulina o calmodulina para una identificación robusta. Las cepas de dicho género que no fueron resultas a nivel de especie mantienen una relación cercana con los agregados de la sección Nigri y un porcentaje de identidad del 98.7% con *Aspergillus tubingensis*, tanto en la localidad de Umécuaro como en Zapotillo. Estos agregados presentan la incidencia más alta en los granos de maíz en ambas comunidades de estudio, seguidos de *A. flavus*. La incidencia de *A. tubingensis* en granos de maíz no es muy conocida, ya que esta especie contamina principalmente uvas destinadas a la industria vinícola, café, pistaches y hierbas de infusión (Perrone et al., 2007; Noonim et al., 2009; Sedaghati et al., 2011; Storari et al., 2012). *A. flavus* es asociado comúnmente al cultivo de maíz y los granos en el almacenamiento, siendo reportado en ocasiones con incidencias mayores a las del género *Fusarium* (Tsedaley y Aduna, 2011; Montes et al., 2009; Hernández-Delgado et al., 2007; Jedidi et al., 2016). *Aspergillus versicolor* es otra especie del grupo aislada en este estudio, su presencia en muestras de la comunidad de Zapotillo se dio durante el periodo de campo y secado, en los granos

de maíz. Es un hongo saprotrófico, que está muy extendido en la naturaleza y a menudo está presente en distintos compartimentos del suelo que incluyen plantas en descomposición, hojarasca, paja y en la rizosfera de distintas especies vegetales, así como en distintos productos alimenticios en descomposición el queso, maní, productos de carne seca, harina y en cereales (Piontek et al., 2016), por lo que rara vez es mencionada en granos de maíz almacenado. En México, el maíz forma parte importante de la dieta de la población por lo que es imprescindible conocer las incidencias, los efectos deletéreos y los metabolitos secundarios que pudieran presentarse en el almacenamiento de los granos de maíz. Los hongos pertenecientes al género *Aspergillus* han sido ampliamente estudiados en este contexto; sin embargo, hace falta estudiar sectores adyacentes al contexto de la producción industrial de maíz que reflejen la diversidad de especies del género.

En el caso del género *Penicillium* la incidencia se encuentra en porcentajes más bajos, comparado con los porcentajes de incidencia con *Aspergillus spp.* (Montes et al., 2009; Hernández- Delgado et al., 2007) y en porcentajes de incidencia más altos que los de *Fusarium spp.* Por otra parte, el género *Talaromyces* fue descrito por Benjamin (1955) como un estado sexual asociado al género *Penicillium* subgénero *Biverticillium* (Peterson y Jurjević, 2017). Se han aislado principalmente de suelo, raíces o ambientes acuáticos (Nguyen y Lee, 2016). *Talaromyces* también cuenta con especies de importancia médica como *T. amestolkiae*, responsable de micetismos en pacientes inmunocomprometidos (Yilmaz et al., 2012). *T. purpurogenus* es una especie reconocida como micotóxigena en la industria alimenticia y vinícola debido a su capacidad para producir rubratoxina y es utilizado en la industria de los pigmentos por la alta producción de mitorubinas. Recientemente se ha reportado a *Penicillium purpurogenum* como un homólogo de este hongo, aceptando la correcta identificación como *T. purpurogenus*. También se ha reportado el aislamiento de *T. purpurogenum* de muestras de maíz en busca de hongos con capacidades enzimáticas asociadas a la pudrición de los granos, aunque la incidencia no se compara con la de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* (Yilmaz et al., 2014).

En cuanto a la producción de ocratoxina A por parte de los aislados fúngicos de las localidades de estudio, dos aislados identificados como *Aspergillus* sp. provenientes de la localidad de Umécuaro dieron positivo a la producción de OTA. Como se explicó anteriormente, estos aislados presentan un porcentaje de identidad alto con *A. tubingensis*, especie perteneciente a la sección Nigri, que está fuertemente relacionado a la contaminación con OTA en uvas y vinos. La sección Nigri contiene a la gran mayoría de productores de ocratoxina A en diferentes productos alimenticios. Se sabe que *Aspergillus flavus* es un productor de aflatoxinas y no se tiene reporte de la capacidad de este hongo para producir OTA; sin embargo, en la sección Flavi se ha descrito a las especies *A. pseudocaelatus* y *A. pseudonomus* como productoras de OTA, las cuales también tienen la capacidad de producir Aflatoxina B1 como el aislado aquí descrito (Varga et al., 2011). En el caso de la sección Versicolores, a la que pertenece el aislado *A. versicolor*, no se ha reportado un hongo de este grupo que produzca ocratoxina (Perrone, 2007). Al igual que el género *Aspergillus*, la producción de ocratoxina está bien estudiada en las especies del género *Penicillium*; no obstante el gran número de reportes de producción de OTA por especies de este género, solamente se ha verificado su producción por *P. nordicum* y *P. verrucosum*, por lo que es necesario complementar la resolución de la especie de *P. citrinum* en la cual se encontró la producción de OTA.

Hasta hace unos años no se conocían reportes de la producción de OTA por especies del género *Talaromyces*, sin embargo, se han hecho algunas correcciones taxonómicas en especies pertenecientes al género *Penicillium* asociadas a la producción de OTA. El principal ejemplo de esto es el caso de *P. verrucosum*, especie productora de ocratoxina A, que ha sido cambiada al género *Talaromyces* como *T. verrucosus* (Samson et al., 2011). El aislado de *Penicillium* sp. de la comunidad de Zapotillo presenta un porcentaje de identidad alto para *P. purpurogenum*, el cual también ha sido descrito como productor de OTA en uvas (Torrelli et al., 2006) y reubicado en el género *Talaromyces* como *T. purpurogenus* (Samson et al., 2011). Otras cepas que han sido reubicadas y asociadas a la producción de OTA han sido *T. funiculosus*, *T. phinofilus*, *T. radicus*, *T. rugulosus* y

T. wortmanii; sin embargo, no se ha podido corroborar la capacidad de estas para la producción de OTA (Yilmaz et al., 2014). Como se comentó anteriormente, es necesario realizar una identificación taxonómica a nivel de especie empleado otros marcadores moleculares, con la finalidad de definir de manera robusta la diversidad de especies productoras de micotoxinas en las variedades de maíz de las comunidades de estudio. No obstante, el nivel de identificación alcanzado en el presente trabajo permite concluir que en las variedades de maíz analizadas se presentan las especies micotoxigénicas comúnmente reportadas en maíz.

La contaminación de hongos en las muestras de maíz de productores familiares se ve influida por dos factores principales. En primer lugar, por el tiempo de recolección. Cuando la recolección es temprana, los granos contienen niveles más altos de humedad; en la recolección tardía, los granos en las mazorcas contienen humedad suficiente, entre los 13% a 15% de contenido de humedad. En segundo lugar, los cultivos en las áreas rurales pueden tener deficiencias en las instalaciones de almacenamiento, como mala ventilación, altas temperaturas y humedad (Magan et al., 2003). La cosecha temprana que se utiliza para evitar la presencia de animales (roedores o aves) y ladrones que puedan estropear y retirar los cultivos, da como resultado cultivos con un alto contenido de humedad que tardarán más en secarse, haciéndolos más propensos a la contaminación por hongos como *Aspergillus* spp. y *Fusarium* spp. En el caso de la cosecha tardía se benefician especies que proliferan bajo condiciones de almacenaje, como son las pertenecientes al género *Penicillium* (Ekwomadu et al., 2018).

Los valores de incidencia de OTA en los granos de maíz coinciden con lo reportado por Palacios et al. (2018) y Castillo y Robinson (2017), quienes encontraron incidencias de OTA en el 100% de las muestras de granos de maíz colectados en el estado de Michoacán. Sin embargo, a nivel internacional se tienen reportes de la incidencia de OTA en cereales, incluyendo el maíz, con porcentajes entre 29%-38% (Lee y Ryu, 2017), En la comunidad de Umécuaro el promedio de concentración de OTA en el periodo de almacenamiento superó por casi 1µg/kg el límite propuesto

por la Unión Europea para granos de maíz, lo cual representa un riesgo para los productores familiares de autoconsumo por los efectos nocivos de la toxina.

La concentración de OTA fue aumentando a través de los diferentes periodos del estudio, lo que concuerda con Duarte et al. (2010) quienes mencionan que la producción de OTA es continua a través de los diferentes periodos en la producción de cereales. En periodo de secado, en el que se lleva a cabo a cabo la selección de la semillas y se previene la entrada de granos contaminados o dañados a los almacenes, no se puede tener la certeza de que no entren granos contaminados con OTA u otras micotoxinas, ya que en ocasiones se pueden encontrar granos visualmente sanos con contenidos altos de OTA. Incluso se tienen reportes de la presencia de OTA en granos de maíz de los cuales no se ha podido aislar al organismo responsable de la producción (Ayalew et al., 2006). Según la evidencia de los hongos aislados en este estudio y la prueba de producción de OTA, es probable que los principales responsables de la contaminación con OTA en los almacenes sean *Aspergillus* sp. y *Talaromyces amestolkiae*, ya que dieron positivo a la producción de dicha micotoxina. De acuerdo con la bibliografía, se podría sugerir la producción de OTA por parte del aislado identificado como *T. verrucosus*, homólogo de *P. verrucosum*, especie descrita como productor de OTA en diferentes productos alimenticios. Algo similar puede asumirse con *T. purpurogenus*, homólogo de *P. purpurogenum* (Samson et al., 2011), el cual también ha sido relacionado con la producción de OTA (Torelli et al., 2006).

Con relación a las diferencias para mantener las calidad física y fisiológica de las semillas de maíz entre los almacenes locales y los silos metálicos, los daños asociados a la presencia de hongos se vieron reducidos dentro de los silos metálicos en coincidencia con lo reportado por García-Leaños et al. (2007), Rosas et al. (2007) y De Groot et al. (2013). Dichos trabajos reportan la disminución del porcentaje de daño en semillas de maíz por efecto del sistema de almacenamiento. En cuanto a las diferencias en los porcentajes de germinación, García-Leaños et al. (2007) reportan porcentajes de germinación de 73.5% en almacenes de productores locales y 86.5% en silos de Guanajuato, con un aumento en la germinación del 13%.

Además, Rosas et al. (2007) reportan un promedio de germinación de 86.2% en semillas de maíz almacenadas en silos y de apenas 40% en las colocadas en los almacenes familiares de diferentes localidades en Oaxaca. En el caso del vigor, los silos metálicos permitieron conservar la capacidad germinativa de las semillas de maíz un 2% por arriba de lo obtenido en los almacenes familiares. El porcentaje de germinación y la germinación asociada al vigor durante el periodo de almacenamiento se correlacionan casi directamente con la incidencia de hongos en el almacén (García-Leaños et al., 2007); sin embargo, la capacidad de conservar el potencial germinativo está relacionado a la composición del endospermo. Guillen-De la Cruz et al. (2018) encontraron una relación estrecha entre los niveles de vigor de las semillas de maíz y la composición del endospermo, siendo las variedades de maíz con mayor proporción de endospermo vítreo las que presentan los mayores niveles de germinación relacionada al vigor. La variedad cultivada en la localidad de Umécuaro fue identificada como perteneciente a la raza purépecha y como “Tuxpeño” en la localidad de Zapotillo, ambas variedades presentan un alto porcentaje de endospermo vítreo (Mijangos, 2005).

Al igual que con la calidad física y fisiológica de las semillas de maíz, los silos metálicos permitieron encontrar promedios de concentración de OTA más bajos que la presentada en los granos de maíz almacenados en los sistemas locales. Si bien no se encuentran diferencias estadísticamente significativas, se pueden encontrar reducciones importantes como es el caso de Umécuaro, donde en los almacenes locales el promedio de concentración (5.92 $\mu\text{g}/\text{kg}$) se encontró sobrepasando el límite permitido por la Unión Europea (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$), mientras que en el silo metálico la concentración promedio fue menor (3.67 $\mu\text{g}/\text{kg}$). De la misma manera, en la comunidad de Zapotillo se vio una diferencia de concentración entre los sistemas donde el silo metálico presentó valores menores.

En Umécuaro se presentó una diferencia más amplia entre los sistemas de almacenamiento debido a que en dicha localidad se realiza el almacenamiento en costales de rafia en una bodega de material, estando expuestos y por lo tanto, susceptibles a la presencia de insectos y microorganismos como los hongos.

Además, no se reporta el uso de agentes químicos que proporcionen protección a los granos de maíz, por lo que se puede sugerir que los cuidados proporcionados en la bodega de almacenamiento son los responsables de la baja incidencia de especies fúngicas. En contraste, en los almacenes familiares de la localidad de Zapotillo si se reportó el uso de agentes químicos. En este caso se tiene un sistema con cerrado hermético al que se le adiciona fosforo de aluminio. Este sistema presentó valores de daño ligeramente más altos que el silo metálico, por lo que se puede sugerir el uso de este último como una opción para eliminar el empleo de fumigantes como el fosforo de aluminio, reafirmando la utilidad de estos dispositivos en la preservación de los granos de maíz.

El contraste entre los sistemas de almacenamiento en relación a la cantidad de especies de hongos asociados a los granos de maíz mostró que el silo metálico fue capaz de reducir la presencia de especies fúngicas. Se presentaron de 8 a 4 aislados en Umécuaro y de 8 a 7 aislados en Zapotillo. No se presentó incidencia de *A. flavus* en los silos de las dos comunidades de estudio, así como otras especies pertenecientes al género *Penicillium*. Esto es importante debido a que son especies que producen diversas micotoxinas de importancia para la salud como las aflatoxinas, citrinina y ocratoxina A. Aunque las aflatoxinas y citrinina no fueron evaluadas en este trabajo, si es de interés para asegurar la calidad del maíz que se consume en las poblaciones de estudio. Al desaparecer estas especies, se logra observar un aumento en la incidencia de hongos de otras especies en las semillas, con mayor potencial para permanecer y proliferar en el silo. Esto podría ser perjudicial para el grano almacenado ya que estaría más propenso a la contaminación con metabolitos de estos hongos que se encuentran con valores elevados de incidencia. García-Leaños et al. (2007) reportaron una diferencia de incidencias entre los almacenes locales y el silo, de 48% a 36%, respectivamente. Por lo que el silo permitió inhibir el crecimiento de los hongos, como también se observó en este estudio.

El silo metálico es capaz de mantener los granos con porcentajes de germinación y vigor altos, así como impedir el aumento de los daños por hongos y la producción

de micotoxinas. La condición hermética de este sistema impide el intercambio gaseoso con el exterior, lo cual reduce la cantidad de oxígeno disponible en el interior, creando una condición biótica auto-inhibitoria con el tiempo, al aumentar la concentración de CO₂ por efecto de la respiración (Tafera et al., 2011). Esta condición obliga a los insectos, que son los que necesitan mayores concentraciones de oxígeno para vivir, a modificar su metabolismo y su humedad corporal hasta el punto en el que se desecan. En este punto, el oxígeno también ha modificado las condiciones humedad ambiental, lo cual se relaciona con el control de las poblaciones fúngicas dentro del silo, permitiendo inhibir el crecimiento y reproducción de los hongos. Aun cuando por sí mismo esto no es capaz de eliminarlos, a medida que pasa el tiempo de almacenamiento otros factores como la competencia por espacio y alimento jugaran un papel importante en la supervivencia de las especies.

9. Resumen de Resultados

- Las variedades de maíz “*Purépecha*” y “*Tuxpeño*” correspondientes a las localidades de Umécuaro y Zapotillo mantuvieron, a lo largo del estudio, niveles altos de germinación y vigor, así como una alta resistencia a daño asociado a la presencia de hongos, por lo que se puede concluir que presentan una calidad física y fisiología alta.
- Se encontró la presencia de especies descritas en la bibliografía como productoras de ocratoxina A, pero solo se logró corroborar la producción de esta micotoxina por parte de los aislados *Aspergillus* sp. y *Talaromyces amestolkiae*.
- Se determinó la incidencia de ocratoxina A en el 100% de las muestras de maíz en ambas comunidades de estudio y la concentración de OTA sólo sobrepasó los límites propuestos por la Unión Europea en los almacenes de la comunidad de Umécuaro, Michoacán.
- Los silos metálicos representan una herramienta accesible y relativamente económica para controlar las poblaciones de animales, plagas y hongos, conservar genotipos de maíz y otros granos alimenticios, así como su calidad física y fisiológica al mantener tanto niveles altos de vigor y germinación como valores bajos de daño en los granos. Esto permite el almacenamiento de granos por periodos de que oscilan de 6 meses a 3 años, preservando la seguridad alimentaria y la salud de los productores de autoconsumo, ya que no hay necesidad del uso de agentes químicos como el fosforo de aluminio. Lo que lleva a restringir las condiciones para la producción de micotoxinas como la ocratoxina A

10. Conclusión

Los granos de maíz almacenados en las unidades de almacenamiento de los productores familiares mostraron contaminación con hongos productores de micotoxinas pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, además de la presencia de otras especies de importancia agronómica relacionadas con problemáticas en los sistemas de almacenamiento y la producción de micotoxinas.

La presencia de ocratoxina A solo rebasó las normas europeas en los almacenes de los productores familiares de la localidad de Umécuaro.

11. Bibliografía

- Abe C, Faria C, de Castro F, de Souza S, Santos F, da Silva C & Barbosa-Tessmann I. (2015). Fungi isolated from maize (*Zea mays* L.) grains and production of associated enzyme activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(7), 15328-15346.
- Acuña NM, Salinas PA & Valles NV. (2015). Determinación de aflatoxinas en productos derivados de cereales de consumo humano en Mercados de Trujillo (Perú). *Revista REBIOLEST*, 2(2), 5-11.
- Aguirre A, Aragón F, Bellon RM, Berthaud J & Smale M. (2000). CG Maize Diversity Conservación: A Farmer – Scientist collaborative Approach. Phase II. First Technical Report. Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo (CYMMYT), IDRC. México D. F. 20 p.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW & Lipman DJ (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*. 215:403-410.
- Alvarenga AAA, Viay MYQ, Badillo MEV & Olivas AF. (2012). Incidencia de hongos potencialmente toxigénicos en maíz (*Zea mays* L.) de diferentes orígenes geográficos en México. *Fitosanidad*, 16(1), 49-50.
- Appendini K. (2010). “La regularización de la tierra en México después de 1992: la ‘apropiación’ campesina de Procede”, *La Economía Rural*, Vol XI, Yúnez A., (compilador) Serie: Los grandes problemas de México, M. Ordorica y J F Prud’homme (coordinadores generales). El Colegio de México.
- Aristizábal LM & Álvarez LP. (2006). Los efectos del nivel de vigor de la semilla pueden persistir e influenciar el crecimiento de la planta, la uniformidad de la plantación y la productividad. *Agronomía* 14(1):17-24.
- Arroyo M, Aldred D & Magan N. (2005). Los factores ambientales y las interacciones de ácidos orgánicos débiles tienen efectos diferenciales sobre el control del crecimiento y la producción de ocratoxina A por los aislamientos de

- Penicillium verrucosum* en el pan. Revista Internacional de Microbiología de los Alimentos. 98(3): 223-231.
- Arrúa Alvarenga AA, Quezada Viay MY, Vázquez Badillo ME & Flores Olivas A. (2012). Incidencia de hongos potencialmente toxigénicos en maíz (*Zea mays* L.) de diferentes orígenes geográficos en México. Fitosanidad, 16(1), 49-50.
- ASERCA (2009) "El manejo de los granos básicos" Boletín ASERCA Regional Peninsular. Núm. 21/09. Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria (ASERCA), marzo.
- Ayalew A, Fehrmann H, Lepschy J, Beck R & Abate D. (2006). Natural occurrence of mycotoxins in staple cereals from Ethiopia. Mycopathology. 162: 57e63.
- Becerril J., y Abdulai, A. (2010). The impact of improved maize varieties on poverty in Mexico: a propensity score-matching approach. World Development. 38(7): 1024-1035.
- Bellon M. R, Barrientos-Priego AF, Colunga-García Marín P, Perales H, Reyes Agüero JA, Rosales-Serna R & Zizumbo-Villarreal D. (2009). Diversidad y conservación de recursos genéticos en plantas cultivadas. Capital natural de México. 2: 355-382.
- Bellon M. R., & Hellin, J. (2011). Planting hybrids, keeping landraces: agricultural modernization and tradition among small-scale maize farmers in Chiapas, Mexico. World Development. 39(8): 1434-1443.
- Blair JE, Coffey MD, Park S, Geiser M & Kang S. (2008). A multi-locus phylogeny for *Phytophthora* utilizing markers derived from complete genome sequences. Fungal Genetics and Biology. 45(3): 266-277.
- Blanco R, Pavón M, González I, García T, Martín MR. (2007). Detección de Ocratoxina A en higos secos utilizando el anticuerpo MAP1 y una técnica de ELISA competitivo. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias. (1)2: 246-252.

- Boué C., Ridaura, S. L., Sánchez, L. M. R., Hellin, J., & Ponce, M. F. (2018). Local dynamics of native maize value chains in a peri-urban zone in Mexico: the case of San Juan Atzacualoya in the state of Mexico. *Journal of Rural Studies*. 64: 28-38.
- Branimir Š. Ruža, P. Sudarić, A. Rozman, V. Kalinovic, I. & Cosic, J. (2007). Influence of Storage Condition on viability Seed and Oil Content of Maize, Soybean and Sunflower. *Agriculturae Conspectus Scientificus (ACS)*. 72.
- Cardoso ML, Bartosik RE, Rodríguez JC & Ochandio D. (2008) Factors affecting carbon dioxide concentration in interstitial air of soybean stored in hermetic plastic bags (silo-bag). In Proceedings of the 8th International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, Chengdu, China, 21–26 September 2008.
- Carrera MM, Mateo BJM & Novillo CJ. (2005). *Prontuario de agricultura: Cultivos agrícolas. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación*
- Castañón NG & Latournerie LM (2004) Performance of S1 maize (*Zea mays* L.) families in different soil pH. *Bragantia*. 63(1):63–72.
- Castellari CC, Cendoya MG, Valle FJM, Barrera V & Pacin AM. (2015). Factores extrínsecos e intrínsecos asociados a poblaciones fúngicas micotoxigénicas de granos de *maíz* (*Zea mays* L.) almacenados en silos bolsa en Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*. 47(4): 350-359.
- Castillo NW. (2016). Determinación de Ocratoxina A en café, cerveza y maíz de Morelia Michoacán por un método E.L.I.S.A. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México
- Castillo NW. y Robinson FVA (2017). Determinación de Ocratoxina A en maíz y Productos Derivados Comercializados en la Ciudad de Morelia Michoacán. *Avances de la Ciencia en México*. Centro de Investigaciones en Óptica. León Guanajuato México. 1102-1106pp.

- Chatterjee, S., Kuang, Y., Splivallo, R., Chatterjee, P., & Karlovsky, P. (2016). Interactions among filamentous fungi *Aspergillus niger*, *Fusarium verticillioides* and *Clonostachys rosea*: fungal biomass, diversity of secreted metabolites and fumonisin production. *BMC microbiology*, 16(1), 83.
- Chilaka CA, De Kock S, Phoku JZ, Mwanza M & Augustina M. (2012). Contaminación por hongos y micotoxinas del maíz comercial sudafricano. *Revista de Alimentación, Agricultura y Medio Ambiente*. 10, 296 – 303
- Christensen, C. M., & Kaufmann, H. H. (1976). Contaminación por hongos en granos almacenados. México, Pax-México. 199 p.
- CONABIO (2010). Argumentación para conservar las razas de maíces nativos de México. Taller con especialistas en maíces nativos, realizado los días 17 y 18 de marzo de 2010 en las instalaciones de la CONABIO. México, D. F. http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/pdf/proyecto/Anexo6_ReunionesTalleres/Tabla%20razas_marzo%202010pdf
- CONAGUA (2014). Diagnóstico del programa presupuestario K141. Rehabilitación y modernización de infraestructura de riego y temporal tecnificado, Conagua, México. 1-31 pp. http://www.coneval.gob.mx/Informes/Evaluacion/Diagnostico/Diagnostico_2014/Diagnostico_2014_SEMARNAT_K141.pdf
- Coronel MB, Sanchis V, Ramos AJ & Marin S. (2009). Assessment of the exposure to ochratoxin A in the province of Lleida, Spain. *Food and Chemical Toxicology* 47(11): 2847-2852.
- Damián-Robles RM, Castro-Montoya AJ, Saucedo-Luna J, Vázquez-Garcidueñas MS, Arredondo-Santoyo M & Vázquez-Marrufo, G. (2017). Characterization of ligninolytic enzyme production in white-rot wild fungal strains suitable for kraft pulp bleaching. *3 Biotech*. 7(5): 319.
- De Groote H, Kimenju SC, Likhayo P, Kanampiu F, Tefera T & Hellin J. (2013). Effectiveness of hermetic systems in controlling maize storage pests in Kenya. *Journal of Stored Products Research*, 53, 27-36.

- Duarte SC, Peña A, Lino CM (2009). A review on Ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products. *Food Microbiology*. 27(2):187-198.
- Egbuta MA, Mwanza M, Njobeh PB, Phoku JZ, Chilaka CA & Dutton MF. (2015). Isolation of filamentous fungi species contaminating some Nigerian food commodities. *Journal of Food Research*, 4, 38.
- Ekwomadu TI, Gopane RE & Mwanza M. (2018). Occurrence of filamentous fungi in maize destined for human consumption in South Africa. *Food Science & Nutrition*, 6(4), 884-890.
- Espinosa-Paz N, Martínez-Sánchez J, Ariza-Flores R, Cadena-Iñiguez P, Hernández-Maldonado M & Ramírez-Córdova AL. (2017). Germinación de semillas de variedades criollas de maíz (*zea mays* L.) bajo déficit hídrico. *AGROProductividad*, 10(9).
- Esteban A, Abarca ML, Bragulat MR & Cabañes, F. J. (2004). Effects of temperature and incubation time on production of ochratoxin A by black aspergilli. *Research in Microbiology*, 155(10), 861-866.
- Ettinger C. (2015). Perspectivas sobre la conservación de la troje purépecha. Entre la conservación ideal y la realidad. Capítulo de libro. *Cultura, Sociedad y Políticas Públicas, Pasado y Presente del Patrimonio Cultural en Michoacán*. Primera edición. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Instituto de Investigaciones Históricas Coordinación de la Investigación Científica, Morelia Michoacán México. pp.69-88.
- FAO (2013). *Agroindustrias para el desarrollo*. Roma. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i3125s.pdf>
- FAO (2014). *Manual para la construcción y el uso de los silos metálicos familiares para almacenar cereales y leguminosas de grano*. Roma. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i3632s.pdf>

- FAOSTAT (2013). Food and Agriculture Organization of United Nations (FAO), Statistics Division, Roma. En: <<http://faostat.fao.org/>> [Accesado el día 14 de mayo de 2018]
- Fenzi M., Jarvis, D. I., Reyes, L. M. A., Moreno, L. L., & Tuxill, J. (2017). Longitudinal analysis of maize diversity in Yucatan, Mexico: influence of agro-ecological factors on landraces conservation and modern variety introduction. *Plant Genetic Resources*. 15(1): 51-63.
- Ferracin LM, Fier CB, Vieira MLC, Monteiro-Vitorello CB, de Mello Varani A, Rossi MM & Fungaro MHP. (2012). Strain-specific polyketide synthase genes of *Aspergillus niger*. *International Journal of Food Microbiology*, 155(3):137-145.
- FIRA (2017). Panorama Agroalimentario. Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial. México. Disponible en: <https://www.fira.gob.mx/InvYEvalEcon/EvaluacionIF>
- Flores HA (2004) Introducción a la Tecnología de las Semillas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 160 p.
- Gallo A, Knox BP, Bruno KS, Solfrizzo M, Baker SE & Perrone G. (2014). Identification and characterization of the polyketide synthase involved in ochratoxin A biosynthesis in *Aspergillus carbonarius*. *International Journal of Food Microbiology*, 179, 10-17.
- Gallo A, Perrone G, Solfrizzo M, Epifani F, Abbas A, Dobson AD & Mulè G. (2009). Characterization of a pks gene which is expressed during ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius*. *International journal of food microbiology*, 129(1), 8-15.
- García-Lara S, y Bergvinson DJ. (2007). "Programa integral para reducir pérdidas poscosecha en maíz". *Agricultura Técnica en México*. Vol. 33. No. 2. pp. 181-189.

- García-Lara S, Espinosa Carrillo C & Bergvinson DJ. (2007). Manual de plagas en granos almacenados y tecnologías alternas para su manejo y control. México, D.F.: CIMMYT.
- García-Leaños MDL, Aguirre-Gómez JA, Narro-Sánchez J, Cortés-Baeza E & Rivera-Reyes JG. (2007). Silo hermético para el control de plagas de granos almacenados en Guanajuato, México. *Agricultura Técnica en México*, 33(3), 231-239.
- Geisen R. (2004). Molecular monitoring of environmental conditions influencing the induction of ochratoxin A biosynthesis genes in *Penicillium nordicum*. *Molecular Nutrition and Food Research*. 48(7):532–40.
- González SA. (2010). Diagnóstico y control de especies de *Aspergillus* productoras de Ocratoxina A. T Universidad Complutense de Madrid. España.
- González-Cortés NH, Silos-Espino JC, Estrada Cabral JA, Chávez-Muñoz & Tejero Jiménez L. (2016). Características y propiedades del maíz (*Zea mays* L.) criollo cultivado en Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 6(3):669-680.
- Govender V, Aveling TAS & Kritzing Q. (2008). The effect of traditional storage methods on germination and vigour of maize (*Zea mays* L.) from northern KwaZulu-Natal and southern Mozambique. *South African Journal of Botany*, 74(2), 190-196.
- Guillen-de la Cruz P, Velázquez-Morales R, de la Cruz-Lázaro E, Márquez-Quiroz C & Osorio-Osorio R. (2018). Germinación y vigor de semillas de poblaciones de maíz con diferente proporción de endospermo vítreo. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 34(2):108- 117.
- Hellin J., Groenewald, S., & Keleman, A. (2012). Impact pathways of trade liberalization on rural livelihoods: a case study of smallholder maize farmers in Mexico. *Revista Iberoamericana de Estudios de Desarrollo*.1(1): 58-82.

- Hernández J, Carballo A, Hernández A & González F. (2000). Ponderación de variables de calidad fisiológica para la medición del vigor de la semilla de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 23 (2): 239 – 250.
- Hernández-Delgado S, Reyes-López MÁ, García-Olivares JG, Mayek-Pérez N & Reyes-Méndez CA (2007). Incidencia de hongos potencialmente toxigénicos en maíz (*Zea mays* L.) almacenado y cultivado en el norte de Tamaulipas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 25(2): 127-133.
- Huato MAD., Arenas, O. R., Valverde, B. R., Reyes, L. L., Lezama, C. P., & León, A. C. (2014). Agricultura familiar y seguridad alimentaria entre productores de maíz de temporal en México. *Agroecología*, 9, 89-99.
- Huff WE & Hamilton PB. (1979). Mycotoxins—their biosynthesis in fungi: ochratoxins—metabolites of combined pathways. *Journal of Food Protection*, 42(10), 815-820.
- INEGI (2009). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Morelia, Michoacán de Ocampo clave geoestadística 16053. Disponible en: http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/16/16053.pdf.
- INEGI (2009b). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Tzitzio, Michoacán de Ocampo Clave geoestadística 16101. Disponible en: http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/16/16101.pdf
- INEGI (2012) Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos en los Hogares. Tabulados básicos. México. En: <http://www3.inegi.org.mx/Sistemas/TabuladosBasicos/tabdirecto.aspx?s=est&c=33501>>
- INEGI (2017). Anuario estadístico y geográfico de Michoacán de Ocampo 2017. Disponible en:

http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/Productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva_estruc/anuarios_2017/702825092092.pdf

Jedidi I, Cruz A, González- Jaén MT & Said S. (2016). Aflatoxins and ochratoxin A and their species in Tunisian cereals. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 10(1),51-58.

Karolewicz A & Geisen R. (2005). Cloning a part of the ochratoxin A biosynthetic gene cluster of *Penicillium nordicum* and characterization of the ochratoxin polyketide synthase gene. *Systematic and Applied Microbiology*. 28 (7): 588-595.

Lahouar A, Marin S, Crespo-Sempere A, Saïd S & Sanchis V. (2017). Influence of temperature, water activity and incubation time on fungal growth and production of ochratoxin A and zearalenone by toxigenic *Aspergillus tubingensis* and *Fusarium incarnatum* isolates in sorghum seeds. *International Journal of Food Microbiology*, 242: 53-60.

Lee HJ, y Ryu D. (2017). Worldwide Occurrence of Mycotoxins in Cereals and Cereal-Derived Food Products: Public Health Perspectives of Their Co-occurrence. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(33), 7034–7051. doi:10.1021/acs.jafc.6b04847

León-Torres A. (2017). Detección e Identificación de Hongos en Semillas de Dos Materiales Híbridos de Maíz del Estado de Puebla. Tesis de ingeniería. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Coahuila, México.

Luque MI, Córdoba JJ, Rodríguez A, Núñez F & Andrade MJ. (2013). Development of a PCR protocol to detect ochratoxin A producing moulds in food products. *Food Control*, 29(1), 270-278.

Magan N, Hope R, Cairns V & Aldred D. (2003). Post-harvest fungal ecology: impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. *European Journal of Plant Pathology*, 109(7), 723-730.

- Malir F, Ostry V, Pfohl-Leszkowicz A, Malir J & Toman J. (2016). Ochratoxin A: 50 years of research. *Toxins*, 8(7): 191.
- Manuel- Rosas I, Gil- Muñoz A, Ramírez-Valverde B, Hernández- Salgado JH & Bellon M. (2007). Calidad física y fisiológica de semilla de maíz criollo almacenada en silo metálico y con métodos tradicionales en Oaxaca, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30 (1), 69-78.
- Marquardt RR, y Frohlich AA. (1992). A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. *Journal Animal Science*. 70: 3968–3988.
- Matsuoka YY, Vigouroux MM, Goodman J, Sanchez G, Buckler E & Doebley J. (2002). A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99: 6080-6084.
- McClenny N. (2005) Laboratory Detection and Identification of *Aspergillus* Species by Microscopic Observation and Culture: The Traditional Approach. *Journal of Medical Mycology*. 43: S125-S128.
- McLean-Rodríguez, F. D., Camacho-Villa, T. C., Almekinders, C. J., Pè, M. E., Dell'Acqua, M., & Costich, D. E. (2019). The abandonment of maize landraces over the last 50 years in Morelos, Mexico: a tracing study using a multi-level perspective. *Agriculture and Human Values*. 1-18. <https://doi.org/10.1007/s10460-019-09932-3>.
- Mijangos CJO. (2005). Estudio de la diversidad genética y relaciones filogenéticas de maíz de la Sierra Tarasca de Michoacán. Tesis doctoral., Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 168 p.
- Montes G, Reyes C, Montes R & Cantú A. (2010). Incidencia de hongos potencialmente toxigénicos en granos de maíz (*Zea mays* L.) usados como alimento humano y animal. *CyTA-Journal of Food*. 2: 1199-125.

- Mühlencoert E, Mayer I, Zapf MW, Vogel RF & Niessen L. (2004). Production of ochratoxin A by *Aspergillus ochraceus*. European Journal Plant Pathology. 110:651–9.
- Navarro M, Febles G & Herrera RS. (2015). Vigor: essential element for seed quality. Cuban Journal Agricultural Science. 49 (4):447-458.
- Nguyen TTT, Paul NC & Lee HB. (2016). Characterization of *Paecilomyces variotii* and *Talaromyces amestolkiae* in Korea based on the morphological characteristics and multigene phylogenetic analyses. Mycobiology, 44(4), 248-259.
- NIMF 5. (2016). Glosario de términos fitosanitarios. FAO, Roma. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-mc891s.pdf>
- Noonim P, Mahakarnchanakul W, Nielsen KF, Frisvad JC, Samson RA. (2009). Fumonisin B2 production by *Aspergillus niger* in Thai coffee beans. Food Addit Contam. 26:94–100.
- NORMA Oficial Mexicana, NOM-188-SSA1-2002. Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias.
- Núñez F, Westphal CD, Bermudez E & Asensio MA. (2007). Production of secondary metabolites by some terverticillate penicillia on carbohydrate-rich and meat substrates. Journal of Food Protection, 70(12), 2829-2836.
- O’Leary M. (2016). Maíz: De México para el mundo. CIMMYT. Disponible en: <https://www.cimmyt.org/es/maiz-de-mexico-para-el-mundo/>
- O’Callaghan J, Stapleton PC, Dobson AD. (2006) Ochratoxin A biosynthetic genes in *Aspergillus ochraceus* are differentially regulated by pH and nutritional stimuli. Fungal Genetic Biology. 43(4):213–21.
- Ortega-Beltran A., Guerrero-Herrera, M. D., Ortega-Corona, A., Vidal-Martinez, V. A., & Cotty, P. J. (2014). Susceptibility to aflatoxin contamination among maize landraces from Mexico. Journal of Food Protection. 77(9): 1554-1562.

- Ortiz-Rosales MÁ, Ramírez-Abarca O, González-Elías JM & Velázquez-Monter A. (2015). Almacenes de maíz en México: tipología y caracterización. *Estudios Sociales (Hermosillo, Son.)*, 23(45), 163-184.
- Padrón M., Yuef, H., Hernández Delgado, S., Reyes Méndez, C. A., & 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.
- Palacios MA, Castillo NW, Robinson FVA. (2018). Determinación de Ocratoxina A (OTA) en Muestras de Maíz y sus Derivados. *Desarrollo Científico en México*. Centro de Investigaciones en Óptica. León Guanajuato México. 54-58pp.
- Payak MM & Sharma RC. (1985). Maize diseases and approaches to their management in India. *Tropical Pest Management* 31:302–310
- Pérez de la C FJ, Carballo A, Santacruz A, Hernández & Molina JC. (2007). Calidad fisiológica en semillas de maíz con diferencias estructurales. *Agricultura Técnica en México*. 33(1):53-61
- Perrone G, Susca A, Cozzi G, Ehrlich K, Varga J, Frisvad JC, Meijer M, Noonim P, Mahakarnchanakul W, Samson RA. 2007. Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. *Stud Mycol*. 59:53–66.
- Peterson SW & Jurjević Ž. (2017). New species of *Talaromyces* isolated from maize, indoor air and other substrates. *Mycologia*, 109(4), 537-556.
- Petzinger E & Weidenbach A. (2002). Mycotoxins in the food chain: the role of ochratoxins. *Livestock Production Science*. 76: 245–250.
- Piontek M, Łuszczynska K & Lechów H. (2016). Occurrence of the toxin-producing *Aspergillus versicolor* Tiraboschi in residential buildings. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(9), 862.
- Pit JI. (1985). A laboratory guide to common *Penicillium* species. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. 2nd ed. North Ride, Australia. 187 pp.

- Priyanka SR, Venkataramana M, Kumar GP, Rao VK, Murali HCS & Batra HV. (2014). Occurrence and molecular detection of toxigenic *Aspergillus* species in food grain samples from India. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(3), 537-543.
- Ramírez –Martínez LG. (2014). La promoción de un buen manejo poscosecha en el campo mexicano. *Enlace. CIMMYT*. (5):18, febrero- marzo, pp. 15-17.
- Ramírez MM, Zurbia–Flores RR & Díaz AL. (1993). Ecología del almacenamiento y el combate de insectos: Control físico y biológico en insectos de granos y semillas almacenados. En: *Insectos de granos almacenados: biología, daños, detección y combate*. INIFAP–CIRCE–CEBAJ. p. 110–146 (Libro Técnico Núm. 1).
- Ramos AJ, Labernia N, Marin S, Sanchis V & Magan N. (1998). Effect of water activity and temperature on growth and ochratoxin production by three strains of *Aspergillus ochraceus* on a barley extract medium and on barley grains. *International Journal Food Microbiology*. 44(1–2):133–40.
- Ravelo AA, Rubio AC, Gutiérrez Fernández AJ & de la Torre AH. (2011). La ocratoxina A en alimentos de consumo humano: revisión. *Nutricion Hospitalaria*, 26(6):1215-1226.
- Reyes W, Patricio S, Pereyra C, González ML, Cavaglieri L & Dalcero A. (2016). Aflatoxins, Deoxynivalenol and Zearelenone in maize straw harvested in Tepatitlan, Jalisco State. *Revista Bio Ciencias* 4(1): 3-14.
- Ribeiro S. (2009). El asalto corporativo a la agricultura. *Ciencias* 92, octubre-marzo, 114-117.
- Ringot D, Chango A, Schneider YJ & Larondelle Y. (2006). Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. *Chemico-Biological Interactions*. 159:18-46.
- Ritchie SW, Hanway JJ & Benson GO. (1996). How a Corn Plant Develops. Iowa State University Cooperative Extension Special Report No. 48. Ames, IA.

- Robledo M, De I, Marín S & Ramos AJ. (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.
- Romero-Martínez M, Shamah-Levy T, Franco-Núñez A, Villalpando S, Cuevas-Nasu L, Gutiérrez JP & Rivera-Dommarco JA. (2013). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012: diseño y cobertura. *Salud Pública de México*, 55, S332-S340.
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres D, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA & Huelsenbeck JP. (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61: 539–542.
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D.L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M.A., Huelsenbeck, J.P. (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst Biol* 61: 539–542.
- Rosas IM, Muñoz GA, Ramírez VB, Hernández-Salgado JH & Bellon M. (2007). Calidad física y fisiológica de semilla de maíz criollo almacenada en silo metálico y con métodos tradicionales en Oaxaca, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(1).
- SAGARPA (2012). Agricultura familiar con potencial productivo en Mexico. Disponible en http://www.sagarpa.gob.mx/programas2/evaluacionesExternas/Lists/Otros%20Estudios/Attachments/42/Agricultura%20Familiar_Final.pdf
- Sambrook J & Russel DW. (2001). *Molecular cloning: a laboratory manual*, third ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y.
- Samson RA, Yilmaz N, Houbraken J, Spierenburg H, Seifert KA, Peterson SW, Varga J & Frisvad JC. (2011) Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. *Studies in Mycology*. 70:159–184.

- Schmidt HM & Geisen R. (2007). A microarray for monitoring the production of mycotoxins in food. *International Journal of Food Microbiology*, 117(2): 131-140.
- Sedaghati E, Nikkhah MJ, Zare R, Fotuhifar KB, Kocsube´ S, Va´gvo¨lgyi Cs, Varga J. (2011). Molecular identification of potentially mycotoxigenic black aspergilli contaminating pistachio nuts in Iran. *Acta Alimentaria*. 40:65–70.
- Serratos HJA. (2009). El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. Primera edición. Greenpeace. Ciudad de México, México. 22pp
- Shehata, H. R., & Raizada, M. N. (2017). A *Burkholderia* endophyte of the ancient maize landrace Chapalote utilizes c-di-GMP-dependent and independent signaling to suppress diverse plant fungal pathogen targets. *FEMS Microbiology Letters*. 364(14): fnx138. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx138>.
- Shehata, H. R., Griffiths, M. W., & Raizada, M. N. (2017). Seeds of the wild progenitor of maize possess bacteria that antagonize foodborne pathogens. *Foodborne Pathogens and Disease*. 14(4): 202-209.
- Shephard GS. (2008). Determination of mycotoxins in humans foods. *Chemical Society Reviews*, 37(11): 2468-2477.
- SIAP (2010) Balanza mensualizada de disponibilidad-consumo. Cultivo: maíz blanco. México, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (Sagarpa).
- Storari M, Dennert FG, Bigler L, Gessler C & Broggini GAL. (2012). Isolation of mycotoxins producing black aspergilli in herbal teas available on the Swiss market. *Food Control*. 26:157–161.
- Studer-Rohr I, Dietrich DR & Schlatter C. (2000). Kinetic parameters and intraindividual fluctuations of Ochratoxin A plasma levels in humans. *Archives of Toxicology*. 74: 499-510

- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M & Kumar S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood and Evolutionary distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731-2739.
- Tefera T, Kanampiu F, de Groote H, Hellin J, Mugo S, Kimenju S, Beyene Y, Boddupalli PM, Shiferaw B & Banziger M. (2011) The metal silo: An effective grain storage technology for reducing post-harvest insect and pathogen losses in maize while improving smallholder farmers' food security in developing countries. *Crop Protection*. 30, 240–245
- Torelli E, Firrao G, Locci R & Gobbi E. (2006). Ochratoxin A-producing strains of *Penicillium* spp. isolated from grapes used for production of “passito” wines. *International Journal of Food Microbiology*. 106:307–312
- Torelli E., Firrao G., Locci R., Gobbi E. 2006. Ochratoxin A-producing strains of *Penicillium* spp. isolated from grapes used for production of “passito” wines. *International Journal of Food Microbiology*. 106:307–312
- Tsedaley B & Adugna G. (2016). Detection of fungi infecting maize (*Zea mays* L.) seeds in different storages around Jimma, Southwestern Ethiopia. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 7, 1-6.
- Van Egmond HP & Jonker MA. (2004). Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y las raciones en el año 2003. Food & Agriculture Org.
- Varga J, Frisvad JC & Samson RA. (2011) Two new aflatoxin producing species, and an overview of *Aspergillus* section *Flavi*. *Studies in Mycology*. 69:57–80.
- Vigorous Y, Glaubitz JC, Matsuoka Y, Goodman MM, Sanchez JG & Doebley J. (2008). Population structure and genetic diversity of New World maize landraces assessed by DNA microsatellites. *American Journal of Botany* 95: 1240-1253.

- Wellhausen EJ, Roberts LM & Hernández EX. en colaboración con Mangelsdorf PC. (1951). Razas de maíz en México. Su origen, características y distribución. Oficina de Estudios Especiales Secretaría de Agricultura y Ganadería. Folleto técnico Núm. 55. México D. F
- White TJ, Bruns T, Lee E & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En: PCR protocols: a guide to methods and applications. Innis et ál. (ed.). Academic Press, pp. 315-322
- Wilke AL, Bronson CR, Tomas A & Munkvold GP. (2007). Seed transmission of *Fusarium verticillioides* in maize plants grown under three different temperature regimes. Plant Disease, 91(9), 1109-1115.
- Yilmaz N, Houbraken J & Hoekstra ES. (2012). Delimitation and characterization of *Talaromyces purpurogenus* and related species. Persoonia. 29:39–54.
- Yilmaz N, Visagie CM, Houbraken J, Frisvad JC & Samson RA. (2014). Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*. Studies in Mycology 78:175–341.
- Yúnez A, Cisneros A & Meza P. (2013). Situando la agricultura familiar en México. Principales características y tipología. Serie Documentos de Trabajo N°149. Grupo de Trabajo: Desarrollo con Cohesión Territorial. Programa Cohesión Territorial para el Desarrollo. Rimisp, Santiago, Chile.
- Yúnez-Naude AT, Rendón & de Appendini K. (2003). The Dismantling of CONASUPO, A Mexican State Trader in Agriculture, The World Economy 26:1, pp. 97-122.
- Yúnez-Naude AT, Rendón & de Appendini K. (2010). Las transformaciones del campo y el papel de las políticas públicas: 1929-2008, en Sandra Kuntz Kicker (coordinadora), Historia económica general de México. De la colonia a nuestros días, El Colegio de México y Secretaría de Economía, 2010, pp. 729-755.
- Zhang H, Goa R & Dong S. (2011). Anatomical and physiological characteristics associated with corn endosperm texture. Agronomy Journal 103(4):1258-1264

12. Anexo

12.1 Anexo 1. Tablas de pruebas de t de student para la comparación de medias entre los sistemas de almacenamiento familiares y los sistemas de almacenamiento validados

Tabla 5. Prueba de T para la comparación de medias de los porcentajes de daño en los granos de maíz

Daño	Se asumen varianzas iguales	Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias					95% de intervalo de confianza de la diferencia	
		F	Sig.	t	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	Inferior	Superior
Umécuaro	Se asumen varianzas iguales	.048	.832	2.045	8	.075	.78200	.38246	-.09995	1.66395
	No se asumen varianzas iguales			2.045	7.806	.076	.78200	.38246	-.10378	1.66778
Zapotillo	Se asumen varianzas iguales	.814	.393	1.725	8	.123	1.55000	.89875	-.52252	3.62252
	No se asumen varianzas iguales			1.725	5.464	.140	1.55000	.89875	-.70250	3.80250

Tabla 6. Prueba de t para comparación de medias acerca del porcentaje de germinación en los sistemas de almacenamiento

Germinación	Se asumen varianzas iguales	Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias					95% de intervalo de confianza de la diferencia	
		F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	Inferior	Superior
Umécuaro	Se asumen varianzas iguales	0.332	0.580	- 0.986	8	0.353	-2.79000	2.83017	-9.31638	3.73638
	No se asumen varianzas iguales			- 0.986	7.51	0.355	-2.79000	2.83017	-9.39045	3.81045
Zapotillo	Se asumen varianzas iguales	0.949	0.358	2.051	8	0.074	3.79000	1.84759	-.47056	8.05056
	No se asumen varianzas iguales			2.051	5.718	0.088	3.79000	1.84759	-.78547	8.36547

Tabla 7. Prueba de t para comparación de medias acerca del porcentaje de germinación relacionado al vigor en los sistemas de almacenamiento.

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
Umécuaro Vigor	Se asumen varianzas iguales	0.022	0.886	-0.597	8	0.567	-0.69000	1.15665	-3.357	1.97725
	No se asumen varianzas iguales			-0.597	7.960	0.567	-0.69000	1.15665	-3.359	1.97958
Zapotillo Vigor	Se asumen varianzas iguales	0.000	0.991	-1.21	8	0.259	-2.29000	1.88629	-6.639	2.05980
	No se asumen varianzas iguales			-1.21	7.811	0.260	-2.29000	1.88629	-6.658	2.07816

Tabla 9. Prueba de t para comparación de medias del contenido promedio de OTA en ambas localidades de estudio.

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
Umécuaro OTA	Se asumen varianzas iguales	0.679	0.434	0.829	8	0.431	2.24800	2.71121	-4.00405	8.50005
	No se asumen varianzas iguales			0.829	5.783	0.440	2.24800	2.71121	-4.44686	8.94286
Zapotillo OTA	Se asumen varianzas iguales	1.273	0.292	0.707	8	0.499	1.48600	2.10076	-3.35837	6.33037
	No se asumen varianzas iguales			0.707	7.167	0.502	1.48600	2.10076	-3.45820	6.43020