

INCIDENCIA DE *ASPERGILLUS FLAVUS*, *FUSARIUM MONILIFORME*, AFLATOXINAS Y FUMONISINAS EN ENSAYOS DE HÍBRIDOS DE MAÍZ EN VENEZUELA.

Claudio Mazzani¹, Orangel Borges¹, Odalis Luzón¹, Venancio Barrientos² y Pablo Quijada¹.

¹ Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Apdo. 4579, Maracay 2101-A, Edo. Aragua. ² Fundación para la Investigación Agrícola DANAC. Apdo. 182, San Javier, Edo. Yaracuy.

Parte de la tesis presentada por el primer autor para obtener el Título de Doctor en Ciencias Agrícolas, Universidad Central de Venezuela.

Recibido: 22 de junio de 1999.

RESUMEN

Mazzani, C., Borges, O., Luzón, O., Barrientos, V. y Quijada, P. 1999. Incidencia de *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, aflatoxinas y fumonisinas en ensayos de híbridos de maíz en Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 12: 9-13.

El objetivo de esta investigación fue evaluar la incidencia natural de *A. flavus* (AF), *F. moniliforme* (FM), aflatoxinas (AFLT) y fumonisinas (FUM) en los granos de 25 híbridos experimentales y comerciales de maíz blanco. Los ensayos fueron conducidos en San Javier (SJ), Edo. Yaracuy y El Sombrero (ES), Edo. Guárico, en un diseño en bloques completos al azar con tres repeticiones. La incidencia de AF y FM se determinó por siembra directa de una muestra de cien granos enteros desinfectados, en el medio maltasal-agar y se calificó como baja entre 0 y 15 %, intermedia entre 15 y 30 %, y alta más de 30 %. El contenido de AFLT y FUM se determinó con inmunoensayos específicos para cada una (VICAM, Sci. Tech., EE.UU.). La información fue sometida a análisis de varianza y comparaciones de medias. La incidencia de AF no presentó diferencias significativas entre híbridos en las dos localidades. El híbrido Danac-2002 resultó el menos colonizado en SJ y ES. El contenido de AFLT en SJ fue muy elevado en todos los híbridos. Diferencias significativas entre híbridos en la incidencia de FM fueron encontradas en SJ y la misma fue intermedia en cuatro materiales y baja en los restantes, mientras que en ES solo Himeca-2000, el más colonizado, fue significativamente diferente al resto de los materiales. No se determinaron diferencias significativas entre híbridos para contenido de FUM en ES. El análisis combinado mostró diferencias altamente significativas entre localidades y no significativas en la interacción híbrido x localidad tanto para AF como para FM, así como diferencias altamente significativas entre híbridos para FM y no significativas para AF. Los resultados mostraron diferencias entre híbridos ante FM, con un marcado efecto ambiental y comportamiento estable de algunos materiales en las dos localidades.

ABSTRACT

Mazzani, C., Borges, O., Luzón, O., Barrientos, V. and Quijada, P. 1999. Incidence of *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, aflatoxins and fumonisins in trials of corn hybrid in Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 12: 9-13.

The objective of this research was to determine the natural incidence of *A. flavus* (AF), *F. moniliforme* (FM), aflatoxins (AFLT) and fumonisins (FUM) in kernels of 25 experimental and commercial white corn hybrids. The trials were conducted at San Javier (SJ), Yaracuy state and El Sombrero (ES), Guárico state, using a completely randomized block design with three replications. The incidence of AF and FM was estimated in samples of 100 kernels placed on a malt-salt-agar medium. Values in the range of 0-15 % were considered low, from 15 to 30 % intermediate and more than 30 % high. AFLT and FUM were quantified through specific immunoassays (VICAM, Sci. Tech., EE.UU.). The data were submitted to analysis of variance and mean separation tests. The incidence of AF in SJ and ES showed no significant differences among hybrids. The hybrid DANAC-2002 was the least colonized in SJ and ES. The amount of AFLT at SJ was very high for all hybrids. Significant differences among hybrids were found at SJ for FM incidence which was intermediate in four hybrids and low in the others. In ES, only HIMECA - 2000, the most colonized, was significantly different to the others hybrids. Non significant differences were found for the content of FUM in ES. In the combined analysis, highly significant differences were found between locations, but not for the interaction hybrids x locations for both AF and FM, and highly significant differences among hybrids were found for FM but not for AF. The results showed differences among hybrids for FM, large environmental effects, while the behavior of some hybrids was consistent across locations.

INTRODUCCIÓN

La producción de maíz (*Zea mays* L.) se ve afectada por problemas de diversa índole entre los que destaca la presencia de hongos que colonizan los granos. Particularmente en Venezuela las condiciones ambientales, propias de áreas tropicales, coinciden con las señaladas por otros autores como favorables para la proliferación de hongos y la síntesis de micotoxinas (2,8,12,24,25).

En América Latina ha sido comprobada consistentemente elevada incidencia de *Aspergillus flavus* y altos niveles de aflatoxinas. La magnitud del problema es mucho mayor por el descubrimiento creciente de nuevas especies de hongos toxigénicos y sus toxinas. Las más recientes, las fumonisinas sintetizadas por *Fusarium moniliforme*, entre otros, han despertado una inquietud igual o mayor a las aflatoxinas, por su alta frecuencia y su toxicidad. Las consecuencias que tiene sobre animales y humanos el consumo

de alimentos contaminados con micotoxinas incluyen un amplio ámbito de efectos anatomopatológicos, disminución de la conversión alimenticia y de la productividad, inmunosupresión, carcinogénesis y hasta la muerte (1,2,6,13,16,17,20).

El control de hongos productores de toxinas es de vital interés para la industria del maíz, por las enormes implicaciones que tienen tanto en la calidad de los granos como en salud pública y animal. Dado que altos niveles de infección por hongos y contaminación con toxinas pueden ocurrir en el campo, la selección de cultivares resistentes es, sin duda, una vía económica y segura para minimizar el problema, lo cual se traduce en producir granos de maíz de mejor calidad y preservar la misma durante el almacenamiento (24,25).

Los trabajos de selección y mejoramiento del maíz por resistencia a hongos toxigénicos han incluido genotipos,

localidades, ciclos y épocas de siembra, suplencia de humedad, distintas técnicas de inoculación y la infección natural. Importantes diferencias entre genotipos por resistencia a *A. flavus* y a las aflatoxinas fueron determinadas por Davis *et al.* (7), Wallin *et al.* (23), Campbell *et al.* (5), Campbell y White (4) y Mazzani (14). Investigaciones desarrolladas por Zummo y Scott (26), Hoenisch y Davis (11), Shelby *et al.* (21), Doko *et al.* (9), Pascale *et al.* (18) y Mazzani (14), arrojaron interesantes resultados sobre la reacción de híbridos de maíz ante *F. moniliforme* y las fumonisinas, demostrándose un marcado efecto del genotipo en la expresión de la resistencia. También ha sido demostrado que el comportamiento de los genotipos ante ambas especies de hongos y la consecuente contaminación con sus toxinas está fuertemente influenciado por factores externos como el ambiente y la presencia de insectos plagas de las mazorcas (23,24,25).

Los programas de mejoramiento del maíz en Venezuela, no han incluido la evaluación de la reacción de los materiales a hongos toxigénicos en los granos. Es conveniente contar con genotipos resistentes para incluirlos en esos programas, así como es necesario conocer la susceptibilidad de los híbridos utilizados o potencialmente utilizables a nivel comercial en el país. Con base en estos argumentos se realizó esta investigación cuyo objetivo fue evaluar la incidencia natural de *A. flavus*, *F. moniliforme*, aflatoxinas y fumonisinas en un grupo de híbridos experimentales y comerciales de maíz blanco en ensayos repetidos en dos localidades de Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Híbridos evaluados, ubicación de los ensayos y diseño experimental. Los materiales evaluados fueron híbridos experimentales y comerciales incluidos en los ensayos regionales del Programa de Mejoramiento del Maíz conducidos por investigadores de la Fundación para la Investigación Agrícola DANAC en distintas localidades de Venezuela.

Dos ensayos del ciclo 1994-95 ubicados en la Fundación DANAC (San Javier, Edo. Yaracuy) y Hacienda Las Guacamayas (El Sombrero, Edo. Guárico) estuvieron conformados por 19 híbridos dobles experimentales de maíz blanco de la Tercera Serie seleccionados previamente con base en características deseables. Fueron originados a partir de líneas obtenidas de poblaciones formadas en la Fundación DANAC con cultivares procedentes de México (CIMMYT), Brasil, Colombia y Venezuela. Presentan un tipo de grano semiduro, con altos valores de peso específico y alto rendimiento en harina. En estos ensayos fueron incluidos seis testigos comerciales (Cuadro 1). El diseño experimental fue bloques completos al azar, con tres repeticiones. Cada parcela estuvo conformada por 2 hileras de 5 m de largo cada una. La distancia entre hileras fue de 0,80 m y entre plantas de 0,25 m (40 plantas por parcela). Fueron cosechadas todas las plantas de cada parcela y las muestras (1-2 Kg de granos) se tomaron del total cosechado por parcela y fueron llevadas al Laboratorio de Micotoxicología de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela para ser analizadas bajo el mismo diseño experimental de campo.

Cuantificación de la incidencia de *Aspergillus flavus* (AF) y *Fusarium moniliforme* (FM). Para la determinación de la incidencia de cada especie de hongo, se utilizó el método de siembra directa de granos intactos (sin daños mecánicos ni por insectos) en un medio agarificado (22). Cien granos de cada

genotipo por cada repetición y localidad fueron desinfectados con hipoclorito de sodio (NaClO 3,27 %) durante 30 seg., lavados cinco veces con agua destilada estéril, secados en placas de Petri con papel de filtro estéril y sembrados en la superficie del medio malta-sal-agar (pH 5,8) a razón de 10-12 granos/placa. Después de siete d de incubación a temp. ambiente se procedió, utilizando la lupa estereoscópica, a determinar el número de granos colonizados por cada especie de hongo en estudio. Se consideraron colonizados aquellos granos que presentaron colonias esporulantes del hongo o al menos un conidióforo emergiendo de la testa o del pedúnculo. Aquellos granos que resultaron colonizados tanto por AF como por FM, fueron cuantificados en el recuento de cada uno. Los resultados se expresaron como porcentaje promedio de granos colonizados (15, 22).

Cuantificación de aflatoxinas (AFLT) y fumonisinas (FUM). Los híbridos fueron evaluados por contenido total de aflatoxinas (B₁, B₂, G₁, G₂) y de fumonisinas (B₁ + B₂) en los granos. Entre varios inmunoensayos disponibles comercialmente fue seleccionado el de Cromatografía de Afinidad desarrollado por la empresa VICAM Sci. Tech., EE.UU. (10), aflatest para AFLT y fumonitest para FUM. Este método utiliza columnas de afinidad desarrolladas con anticuerpos monoclonales altamente específicos para cada micotoxina. En líneas generales para ambas toxinas, el método consiste en una molienda en seco (50 g de cada híbrido en cada localidad y cada repetición), extracción en una solución metanol-agua + NaCl, filtración-dilución, paso a través de la columna de afinidad, lavado, elución de la toxina con metanol puro, derivatización y fluorometría.

Criterios para la calificación de la incidencia de *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, aflatoxinas y fumonisinas. A continuación se presentan las escalas utilizadas para la valoración de los híbridos:

Calificación	% de granos colonizados con AF y FM ⁽¹⁾	Aflatoxinas ppb ⁽²⁾	Fumonisinias ppm ⁽²⁾
Baja	0 - 15	< 20	< 5
Intermedia	15 - 30	-	-
Alta	> 30	> 20	> 5

⁽¹⁾ Adaptación a los criterios de evaluación seguidos por Mazzani (15); Campbell *et al.* (5); Hoenisch y Davis (11) y Bullerman y Tsai (3)

⁽²⁾ Hansen (10)

Tratamiento Estadístico. Los resultados de incidencia de AF y de FM, así como del contenido de AFLT y FUM, fueron evaluados por análisis de varianza y comparación de medias por la prueba de rangos múltiples de Duncan. Fue necesario realizar transformaciones a $\text{arc sen } \sqrt{\% / 100}$ de la incidencia de AF y FM, a \log de ppb de AFLT y a $\sqrt{\text{ppm}}$ de FUM, a fin de ajustar la normalidad de los datos. Se realizó el análisis de correlación simple entre los contenidos de AFLT o de FUM y la incidencia de AF y FM, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

San Javier. El análisis de varianza de la incidencia de AF en San Javier no arrojó diferencias significativas entre híbridos. Todos los híbridos resultaron infectados por AF y en todos la incidencia fue alta. El rango de incidencia entre híbridos fue estrecho y varió desde 58,7 % en DANAC-2002

hasta 85,7 % en Pioneer-3001w, siendo superior a 70 % en veinte materiales (Cuadro 1). La incidencia de AF en este grupo de híbridos fue marcadamente mayor a la observada en un ensayo previo en esta localidad (SJ-1) (14). Los materiales presentes en ambos ciclos de evaluación fueron los testigos comerciales Tocoacán-127 y PB-8 los cuales presentaron incidencias de 21,0 y 32,8 %, respectivamente, en el ensayo SJ-1 y de 75,3 y 71,0 %, respectivamente, en este ensayo. La alta incidencia de AF que, bajo infección natural, se observó en todos los materiales de este ensayo, los califica como altamente susceptibles de acuerdo a las consideraciones hechas por Campbell *et al.* (5).

Diferencias significativas ($P \leq 0,10$) entre híbridos fueron encontradas en el contenido de aflatoxinas en los granos en San Javier. El contenido de aflatoxinas fue extremadamente alto en todos los materiales. La comparación de medias mostró que el híbrido menos contaminado (DANAC-2002) fue significativamente diferente a nueve materiales, mientras D-3075 (el más contaminado) fue diferente a dieciséis de ellos (Cuadro 1). Maíces con esos niveles de aflatoxinas serían rechazados en cualquier industria procesadora ya que el límite máximo ha sido fijado en 20 ppb (10). No se encontró correlación significativa ($r = 0,07$; $p = 0,52$) entre incidencia de AF y contenido de aflatoxinas, contrario a lo obtenido por Payne (19) quien encontró correlación positiva y altamente significativa con inoculación y con infección natural. Es probable que la ausencia de correlación se debió a la ocurrencia natural y simultánea de cepas de AF con diferentes capacidades aflatoxigénicas. En otras investigaciones sobre resistencia a las aflatoxinas en maíz, fueron encontradas diferencias entre híbridos y altos contenidos en algunos materiales. En la región sur de Alabama, EE.UU., muchos híbridos evaluados por Davis *et al.* (7) tuvieron contaminación media de 1188 ppb. Niveles más bajos fueron detectados por Wallin *et al.* (23) en cruzamientos con las líneas susceptibles Mo (275 ppb) y B73 (173 ppb), y entre las dos líneas susceptibles (227 ppb). Sin embargo, Campbell y White (4) encontraron hasta 938 ppb cuando inocularon las mismas líneas susceptibles y otras a ser cruzadas con estas. Estas comparaciones confirman que los híbridos incluidos en este ensayo son susceptibles a la infección por AF y a la contaminación con aflatoxinas. Los resultados demuestran que las condiciones ambientales y de presión de inóculo en San Javier son altamente favorables para el desarrollo de AF.

Diferencias altamente significativas ($P \leq 0,01$) entre híbridos fueron encontradas en San Javier para incidencia de FM. En la comparación de medias, los híbridos menos colonizados (D-3081 y D-3121) solo mostraron diferencias significativas con los cinco de mayor incidencia, mientras que los dos más colonizados fueron diferentes a veinte de los materiales (Cuadro 1). La incidencia fue intermedia en DANAC-2002, D-3073, HIMECA-2000 y D-3095 y baja en los restantes. El comportamiento de estos híbridos fue bueno si lo comparamos con los valores señalados por Pascale *et al.* (18) y por Hoenisch y Davis (11). La incidencia de FM en este ensayo (3,0 a 21,7 %) fue marcadamente menor a la del ensayo SJ-1 (12,2 a 44,0 %) (14). Las condiciones ambientales en este ciclo fueron aparentemente más favorables para AF que para FM. PB-8 presentó la menor incidencia de FM en el ensayo SJ-1 y fue el tercero menos colonizado en este ensayo. Tocoacán-127 presentó ubicación intermedia en las comparaciones de medias en ambos ensayos, mostrándose consistentes en las condiciones de San Javier.

Cuadro 1. Incidencia de *A. flavus* y comparación de medias de la incidencia de *F. moniliforme* y del contenido de aflatoxinas en los granos de 25 híbridos de maíz blanco en San Javier, Estado Yaracuy, durante 1994-1995.

Híbridos	<i>Aspergillus flavus</i> ⁽¹⁾	Aflatoxinas ⁽²⁾	<i>Fusarium moniliforme</i> ⁽¹⁾
Pioneer-3001 w (T)	(+) 85,7 ⁽⁴⁾	710,0 BC ⁽³⁾	5,3 ABC
D-3075	(+) 85,0	(+) 905,0 C	5,7 ABC
D-3114	84,0	593,3 AB	5,7 ABC
D-3119	83,0	716,7 BC	8,7 ABCD
D-3124	81,3	643,3 AB	5,0 AB
D-3081	81,0	590,0 AB	(-) 3,0 A
D-3097	80,7	640,0 AB	6,3 ABC
D-3109	79,3	526,7 AB	5,7 ABC
D-3088	79,0	663,3 AB	8,0 ABCD
D-3093	79,0	646,7 AB	7,0 ABC
D-3117	79,0	586,7 AB	9,7 ABCD
D-3121	78,7	596,7 AB	(-) 3,3 A
D-3074	77,7	696,7 BC	5,0 AB
D-3083	77,0	616,7 AB	10,3 ABCD
HFP-2 (T)	76,3	653,3 AB	5,7 ABC
Toc-127 (T)	75,3	690,0 BC	7,7 ABC
D-3115	72,3	703,3 BC	7,0 ABC
PB-8 (T)	71,0	710,0 BC	4,7 AB
D-3078	70,7	673,3 BC	9,7 ABCD
D-3118	70,7	690,0 BC	15,0 BCDE
D-3084	68,7	583,3 AB	10,3 ABCD
D-3095	68,7	596,7 AB	18,3 DE
HIMECA-2000 (T)	67,7	553,3 AB	16,0 CDE
D-3073	(-) 60,3	633,3 AB	(+) 21,7 E
DANAC-2002 (T)	(-) 58,7	(-) 430,0 A	(+) 20,7 E
C.V. %	15,24	2,74	35,47

C.V.: Coeficiente de variación. ⁽¹⁾ % de granos colonizados. ⁽²⁾ ppb.

⁽³⁾ Las medias seguidas de la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan ($\alpha = 0,05$).

⁽⁴⁾ No se realizó comparación de medias.

(+): más colonizado o contaminado. (-): menos colonizado o contaminado.

Los seis híbridos con mayor incidencia de FM presentaron la menor colonización con AF, lo cual coincide con lo señalado por Zummo y Scott (26). Los híbridos más colonizados por AF presentaron baja incidencia de FM, contrario a lo observado por los mencionados autores, quienes afirman que la infección de los granos por AF favorece su colonización por FM. En este ensayo no se evaluó la contaminación con fumonisinas debido a la baja incidencia de FM.

El Sombrero. El análisis de varianza no arrojó diferencias significativas entre híbridos para incidencia de AF. La incidencia fue baja en venticuatro materiales. El híbrido menos colonizado fue DANAC-2002, mientras que los más colonizados fueron D-3109, D-3117 y Pioneer-3001w (Cuadro 2). El híbrido DANAC-2002 presentó la menor incidencia de AF también en un ensayo previo en San Javier (SJ-1) (14). Pioneer-3001w, segundo en la mayor incidencia en este ensayo, fue el más colonizado en San Javier. De acuerdo a la escala de evaluación utilizada por Campbell *et al.* (5), la incidencia de AF en estos híbridos ($\leq 16,3$ %) en El Sombrero los calificaría como resistentes, con la reserva que ésta evaluación se realizó bajo infección natural y por el pobre comportamiento mostrado en San Javier. Los resultados discutidos sugieren la inconveniencia de evaluar incidencia

Cuadro 2. Incidencia de *A. flavus*, contenido de fumonisinas y comparación de medias de la incidencia de *F. moniliforme* en los granos de 25 híbridos de maíz blanco en El Sombrero, Estado Guárico, durante 1994-1995.

Híbridos	<i>Aspergillus flavus</i> ⁽¹⁾	<i>Fusarium moniliforme</i> ⁽¹⁾	Fumonisinas ⁽²⁾
D-3109	(+) 16,3 ^(a)	(-) 21,3 A ^(a)	4,0 ^(a)
D-3117	(+) 14,0	25,7 A	3,3
Pioneer-3001w (T)	14,0	28,0 A	5,7
PB-8 (T)	12,7	27,7 A	3,7
D-3115	10,3	28,0 A	2,7
D-3074	9,0	26,3 A	(+) 6,3
D-3114	7,7	31,0 A	3,0
D-3083	7,7	30,3 A	3,7
D-3118	7,0	33,0 A	3,3
D-3093	6,0	29,7 A	3,0
Toc-127 (T)	5,3	(-) 22,0 A	2,0
D-3075	5,0	22,7 A	2,3
D-3081	5,0	34,0 A	2,0
D-3121	4,0	22,3 A	1,3
HFP-2 (T)	3,7	24,7 A	(-) 1,0
D-3078	3,7	23,0 A	2,3
D-3097	3,3	30,3 A	2,7
D-3073	3,0	(+) 35,0 A	2,0
D-3124	2,7	28,0 A	3,0
HIMECA-2000 (T)	2,3	(+) 48,7 B	2,7
D-3084	2,0	22,3 A	3,7
D-3088	1,7	27,3 A	1,3
D-3119	1,7	8,7 A	2,0
D-3095	(-) 1,0	32,3 A	3,0
DANAC-2002 (T)	(-) 0,3	23,3 A	2,0
C.V. %	12,77	15,45	35,65

C.V.: Coeficiente de variación. ⁽¹⁾ % de granos colonizados. ⁽²⁾ ppm.

^(a) Las medias seguidas de la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan ($\alpha = 0,05$).

^(b) No se realizó comparación de medias.

(+): más colonizado o contaminado. (-): menos colonizado o contaminado.

de AF en El Sombrero donde la presión de inóculo parece haber sido insuficiente y las condiciones ambientales no favorables para el hongo, por lo cual no se determinó el contenido de aflatoxinas.

La incidencia de FM en El Sombrero mostró diferencias significativas ($P \leq 0,10$) entre híbridos. En la comparación de medias, HIMECA-2000 fue el híbrido más colonizado y resultó significativamente diferente a los venticuatro híbridos restantes (Cuadro 2). La incidencia en estos híbridos fue similar a la presentada en un ensayo previo en esta localidad (ES-1) (14). Los únicos híbridos incluidos en ambos ensayos, Tocarón-127 y PB-8, presentaron un comportamiento estable. Tocarón-127 fue el menos colonizado en el ensayo ES-1 (14,4 %) y el segundo menos colonizado en este ensayo (22,0 %). PB-8 mostró incidencia intermedia en ambos ensayos. Estos resultados coinciden con lo observado por Zummo y Scott (26) quienes determinaron incidencias de FM desde 16,4 hasta 47,6 % en seis híbridos bajo infección natural, aunque no establecieron ninguna escala de resistencia. Por su parte, Pascale *et al.* (18) consideraron altamente susceptibles tres híbridos que presentaron desde 23,8 hasta 60 % de granos dañados por FM bajo inoculación. También en la escala de Hoenisch y Davis (11) el comportamiento de estos híbridos en El Sombrero sería de intermedios a altamente susceptibles.

No fueron encontradas diferencias significativas entre híbridos para contenido de fumonisinas, el cual varió desde 1,0 ppm en HFP-2 hasta 6,3 ppm en el híbrido experimental D-3074 (Cuadro 2). Aún con las pocas diferencias observadas entre híbridos fué importante el hecho de que todos resultaron contaminados con la toxina. No se encontró correlación ($r = 0,05$; $p = 0,64$) entre incidencia de FM y el contenido de fumonisinas, atribuible a la ocurrencia natural y simultánea de cepas de FM con diferentes capacidades toxigénicas. Los contenidos citados son aceptables comparados con los obtenidos por Shelby *et al.* (21) en un grupo de híbridos evaluados en once localidades (desde 5,8 hasta 30,5 ppm). Por su parte, Pascale *et al.* (18) encontraron desde cero hasta 196 ppm en granos dañados por *Fusarium* y desde cero hasta 93,2 ppm en granos asintomáticos de catorce híbridos evaluados. Doko *et al.* (9) encontraron, en líneas de maíz estudiadas en Italia e híbridos evaluados en Portugal, Zambia y Benin, contenidos desde 2,85 hasta 4,45 ppm e incidencias de la toxina entre 82 y 100 %. No se han fijado límites en el contenido de fumonisinas en maíz para consumo humano. La F.D.A.-U.S.D.A. establece tolerancias máximas de 5, 10 y 50 ppm en alimentos para equinos, cerdos y bovinos, respectivamente (10).

Análisis combinado de San Javier y El Sombrero. El análisis de varianza combinado de los ensayos de San Javier y El Sombrero, realizado una vez comprobada la homogeneidad de errores, indicó diferencias altamente significativas ($P \leq 0,01$) entre localidades para incidencia de AF. En El Sombrero la incidencia fue marcadamente menor que en San Javier, atribuible a condiciones ambientales diferentes y no favorables para la ocurrencia natural de AF en El Sombrero. Es común que, en la evaluación de híbridos por incidencia de *A. flavus* y contaminación con aflatoxinas, se obtenga significación entre localidades derivada de variaciones ambientales (23,24,25). No fueron detectadas diferencias significativas entre híbridos, ni en la interacción híbrido x localidad, indicando que el comportamiento relativo de los híbridos fue similar en ambas localidades.

Diferencias altamente significativas ($P \leq 0,01$) entre localidades e híbridos, y no significativas en la interacción híbrido x localidad fueron obtenidas para incidencia de FM. De acuerdo a los valores de incidencia encontrados por Zummo y Scott (26), Hoenisch y Davis (11) y Pascale *et al.* (18), los híbridos incluidos en estos ensayos mostraron buen comportamiento ante FM.

La ausencia de significación en la interacción híbrido x localidad, sea para AF como para FM, ratifica la interpretación de los resultados de los análisis por localidad.

En este análisis combinado se observó un comportamiento contrario de los materiales ante AF y FM. El híbrido D-3109 que presentó la segunda incidencia más alta de AF fue el segundo menos colonizado por FM. Los tres híbridos más colonizados por FM (HIMECA-2000, D-3095 y D-3073) estuvieron entre los cuatro con menor incidencia de AF (Cuadro 3). El hecho de que materiales con alta incidencia de FM presenten baja colonización por AF ha sido señalado en la literatura (26) pero no la relación inversa.

Los resultados mostraron diferencias entre híbridos en la infección por FM, las cuales parecen ser consistentes en algunos materiales. Asimismo, se corroboró que la reacción de los híbridos ante ambas especies y sus micotoxinas está fuertemente influenciada por las condiciones ambientales donde se desarrollan. Las diferencias observadas entre los materiales abren la posibilidad de seleccionar y zonificar

Cuadro 3. Incidencia de *A. flavus* y comparación de medias de la incidencia de *F. moniliforme* en los granos de 25 híbridos de maíz blanco en San Javier, Estado Yaracuy y El Sombrero, Estado Guárico, durante 1994-1995.

Híbrido	<i>Aspergillus flavus</i> ⁽¹⁾	<i>Fusarium moniliforme</i> ⁽¹⁾
Pioneer-3001 W (T)	(+) 49,8 ⁽²⁾	16,7 ABC ⁽²⁾
D-3109	(+) 47,8	(-) 13,5 A
D-3117	46,5	17,7 ABC
D-3114	45,8	18,3 ABC
D-3075	45,0	14,2 A
D-3074	43,3	15,7 AB
D-3081	43,0	18,5 ABC
D-3093	2,5	18,3 ABC
D-3083	42,3	20,3 BC
D-3119	42,3	18,7 ABC
D-3097	42,0	18,3 ABC
D-3124	42,0	16,5 ABC
PB-8 (T)	41,8	16,2 ABC
D-3121	41,3	(-) 12,8 A
D-3115	41,3	17,5 ABC
D-3088	40,3	17,7 ABC
Toc-127 (T)	40,3	14,8 AB
HFP-2 (T)	40,0	15,2 AB
D-3118	38,8	24,0 BCDE
D-3078	37,2	16,3 ABC
D-3084	35,3	16,3 ABC
HIMECA-2000 (T)	35,0	(+) 32,3 E
D-3095	34,8	25,3 CDE
D-3073	(-) 31,7	(+) 28,3 DE
DANAC-2002 (T)	(-) 29,5	22,0 ABCD
C.V. %	15,34	22,27

C.V. : Coeficiente de variación. ⁽¹⁾ % de granos colonizados.
⁽²⁾ Las medias seguidas de la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan ($\alpha = 0,05$).
⁽³⁾ No se realizó comparación de medias.
 (+) : más colonizado. (-) : menos colonizado.

híbridos de acuerdo al hongo predominante en cada región. Esta primera evaluación de genotipos de maíz por reacción a hongos toxigénicos en los granos demostró la vigencia de este problema y la importancia de incluir este aspecto en los programas de mejoramiento de este cultivo en Venezuela.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela, a la Fundación para la Investigación Agrícola DANAC y a FUNDACITE - Aragua por los aportes financieros que hicieron posible esta investigación.

LITERATURA CITADA

- Bacon, C.W. and Nelson, P.E. 1994. Fumonisin production in corn by toxigenic strains of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. *Journal of Food Protection* 57(6): 514-521.
- Bean, G.A. 1989. Maize mycotoxins in Latin America. *Plant Disease* 73:597-600.
- Bullerman, L.B. and Tsai, W.J. 1994. Incidence and levels of *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and fumonisins in corn and corn-based foods and feeds. *Journal of Food Protection* 57(6): 541-546.
- Campbell, K.W. and White, D.G. 1995. Inheritance of resistance to *Aspergillus* Ear Rot and aflatoxin in corn genotypes. *Phytopathology* 85: 886-896.

- Campbell, K.W., White, D.G. and Toman, J. 1993. Sources of resistance in F₂ corn hybrids to ear rot caused by *Aspergillus flavus*. *Plant Disease* 77:1169.
- Cati, S. y Mazzani, C. 1991. Micoflora de granos de maíz almacenados en el Estado Guárico (Venezuela): Identificación y cuantificación. *Fitopatol. Venez.* 4: 54.(Resumen).
- Davis, N.D., Curier, C.G. and Diener, U.L. 1985. Response of corn hybrids to aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. Alabama Agricultural Experiment Station Bulletin 575. Auburn, Alabama, USA.
- Doko, M.B., Canet, C., Brown, N., Sydenham, E.W., Mpuchane, S. and Siame, B.A. 1996. Natural Co-occurrence of fumonisins and zearalenona in cereals and cereal-based foods from eastern and southern Africa. *J. Agric. Food Chem.* 44: 3240-3243.
- Doko, M.B., Rapior, S., Visconti, A. and Schjoth, J.E. 1995. Incidence and levels of fumonisin contamination in maize genotypes grown in Europe and Africa. *J. Agric. Food Chem.* 43(2): 429-434.
- Hansen, T.J. 1993. Quantitative testing for mycotoxin. *J. American Ass. Cereal Chem.* 38(5): 346-348.
- Hoenisch, R.W. and Davis, R.M. 1994. Relationship between kernel pericarp thickness and susceptibility to *Fusarium* ear rot in field corn. *Plant Disease* 78: 517-519.
- Jelinek, C., Pohland, A. and Wood, G.E. 1989. Worldwide occurrence of micotoxins in foods and feeds. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 72(2): 223-229.
- Martínez, A. 1991. Contribución al estudio de la flora fúngica y su toxigenicidad e incidencia de aflatoxinas en cereales y oleaginosas cultivadas en Venezuela. Trabajo de Ascenso. Caracas, Venezuela. Universidad Central de Venezuela. 290. pp.
- Mazzani, C. 1998. Incidencia de *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, aflatoxinas y fumonisinas en los granos de híbridos de maíz (*Zea mays* L.) en Venezuela. Tesis Doctoral. Maracay, Venezuela. Universidad Central de Venezuela. 121 pp.
- Mazzani, C. 1989. Evaluación de la resistencia de genotipos de maní (*Arachis hypogaea* L.) a la colonización de sus semillas por hongos del género *Aspergillus*. Tesis Mag. Sc. Maracay, Venezuela. Universidad Central de Venezuela. 104 pp.
- Medina, M.S. y Martínez, A. 1994. Detección de mohos y niveles de aflatoxinas y fumonisinas en maíz cultivado en Venezuela y su destrucción por amoniación. Anais I Congreso Latinoamericano de Micotoxicología. Río de Janeiro, Brasil. pp. 81-82.
- Norred, W.P. and Voss, K.A. 1994. Toxicity and role of fumonisins in animal diseases and human esophageal cancer. *Journal of Food Protection* 57(6): 522-527.
- Pascale, M., Visconti, A., Pronezuk, M., Wisniewska, H. and Chelkowski, J. 1997. Accumulation of fumonisins in maize hybrids inoculated under field conditions with *Fusarium moniliforme* Sheldon. *J. Sci. Food Agric.* 74: 1-6.
- Payne, G.A. 1988. Aflatoxin accumulation in inoculated ears of field-grown maize. *Plant Disease* 72: 422-424.
- Ruiz de C., E. 1995. Contribución al estudio de la contaminación con micotoxinas (Aflatoxina B₁, Esterigmatocistina, Zearalenona y Citrinina) en maíz (*Zea mays* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L.) y arroz (*Oryza sativa* L.) de consumo en Venezuela. Trabajo de Ascenso. Maracay, Venezuela. Universidad Central de Venezuela. 137 pp.
- Shelby, R.A., White, D.G. and Bauske, E.M. 1994. Differential fumonisin production in maize hybrids. *Plant Disease* 78:582-584.
- Singh, K., Frisvad, J.C., Thrane, U. and Mathur, S.B. 1991. An illustrated manual on identification of some seed-borne *Aspergilli*, *Fusaria* and *Penicillia* and their mycotoxins-Hellerup, Denmark. Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries. pp. 6-7.
- Wallin, J.R., Widstrom, N.W. y Fortnum, B.A. 1991. Maize populations with resistance to field contamination by aflatoxin B₁. *J. Scic. Food Agric.* 54: 235-238.
- Wicklow, D.T. 1991. Epidemiology of *Aspergillus flavus* in corn. In Aflatoxin in corn: New perspectives. O.L. Shotwell and C.R. Hurburg (eds.). Iowa Agricultural and Home Experiment Station. Iowa State University, Ames, Iowa-Research Bulletin 599. pp. 315-327.
- Widstrom, N.W. 1996. The aflatoxin problem with corn grain. *Advances in Agronomy* 56: 219-280.
- Zummo, N. and Scott, G.E. 1992. Interaction of *Fusarium moniliforme* and *Aspergillus flavus* on kernel infection and aflatoxin contamination in maize ears. *Plant Disease* 76: 771-773.