

## ARTÍCULOS

### MOHOS TOXIGÉNICOS Y MICOTOXINAS EN MAÍZ DE GRANO BLANCO COSECHADO BAJO RIEGO EN LOS ESTADOS YARACUY Y PORTUGUESA, VENEZUELA

Marleny Chavarri<sup>1</sup>, Odalís Luzón<sup>1</sup>, Claudio Mazzani<sup>1</sup>, Carlos González<sup>2</sup>,  
Jesús Alezones<sup>2</sup> y Mario José Garrido<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Laboratorio de Micotoxicología, Apartado Postal 4579, Maracay 2101-A, estado Aragua; <sup>2</sup>Fundación Danac, Apartado Postal 182, San Javier, estado Yaracuy; Venezuela.

Recibido: 01 de febrero de 2009.

Aceptado: 25 de junio de 2009.

#### RESUMEN

Chavarri, M., Mazzani, C., Luzón, O., González, C., Alezones, J. y Garrido, M.J. 2009. Mohos toxigénicos y micotoxinas en maíz de grano blanco cosechado bajo riego en los estados Yaracuy y Portuguesa, Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 22: 2-7.

Para detectar y cuantificar *Aspergillus flavus* (FV), *Fusarium verticillioides* (FV), aflatoxinas (AFLA) y fumonisinas (FUM), en granos de maíz, se realizaron ensayos en Sabana de Parra, estado Yaracuy, Agua Blanca y Santa Cruz de Turén, estado Portuguesa, durante la época seca del ciclo 2005-2006 y en San Javier, estado Yaracuy, durante la época seca del ciclo 2006-2007. La incidencia fúngica se determinó por siembra directa de granos enteros, desinfectados, en malta sal agar. El contenido de AFLA y FUM en Sabana de Parra, Agua Blanca y Santa Cruz de Turén se determinó por inmunoensayo específico. En San Javier la cuantificación de AFLA se realizó por ELISA y FUM por inmunoensayo específico. En Sabana de Parra, Agua Blanca y Santa Cruz de Turén se encontraron diferencias significativas entre los genotipos en la incidencia de AF y FV, y no significativos para los contenidos de AFLA y FUM. En San Javier se observaron diferencias significativas en los contenidos de AFLA y FUM, y no significativa para AF y FV. La incidencia de AF fue baja en Agua Blanca y San Javier, baja en Sabana de Parra a excepción de P30F94 y de baja a alta en Santa Cruz de Turén. La incidencia de FV fue baja en Sabana de Parra y de baja a alta en las demás localidades. Los contenidos de FUM fueron bajos y los de AFLA estaban dentro del límite permitido en Sabana de Parra, pero en las demás localidades varias muestras excedieron los 20 ng/g, máxima tolerancia permitida.

Palabras clave adicionales: aflatoxinas, fumonisinas, *Zea mays*.

#### ABSTRACT

Chavarri, M., Mazzani, C., Luzón, O., González, C., Alezones, J. and Garrido, M.J. 2009. Toxigenic molds and mycotoxins in corn of white grain harvested in irrigated fields at Yaracuy and Portuguesa States, Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 22: 2-7.

To detect and quantify *Aspergillus flavus* (FV), *Fusarium verticillioides* (FV), aflatoxin (AFLA) and fumonisins (FUM) on maize grains was tested in Sabana de Parra, Yaracuy State, Agua Blanca and Santa Cruz de Turén, Portuguesa State during the dry season of 2005-2006 cycle and San Javier, Yaracuy State during the dry season of 2006-2007. Fungal incidence was determined by direct seeding of whole grains, disinfected, on malt salt agar. The content of AFLA and FUM in Sabana de Parra, Agua Blanca and Santa Cruz de Turén was determined by specific immunoassay. In San Javier AFLA quantification was performed by ELISA and specific immunoassay FUM. In Sabana de Parra, Agua Blanca and Santa Cruz de Turén significant differences between genotypes in the incidence of AF and FV, and not significant for the contents of AFLA and FUM were detected. In San Javier significant differences in the contents of AFLA and FUM, and not significant for AF and FV were observed. The incidence of AF was low in Agua Blanca and San Javier, low in Sabana de Parra except P30F94 and low to high in Santa Cruz de Turén. The incidence of FV was low in Sabana de Parra, and low to high in the other localities. In Sabana de Parra FUM and AFLA contents were low and just under the limit permissible, but in the other localities several samples exceeded 20 ng/g maximum permitted tolerance.

Additional key words: aflatoxins, fumonisins, *Zea mays*.

#### INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cereales más cultivados en el mundo; es particularmente importante para consumo humano y animal así como en la industria, donde se elaboran subproductos (harinas, aceite, proteínas, almidón, bebidas alcohólicas, edulcorantes alimenticios, entre otros) (11).

Las condiciones climáticas de las regiones tropicales como las de Venezuela favorecen el crecimiento de mohos toxigénicos en el cultivo de maíz (1,14,16). Numerosos trabajos citan como mohos responsables de podredumbres de granos a las especies referibles a los géneros *Fusarium*, *Penicillium* y *Aspergillus*. La presencia de mohos en granos de maíz no solo afecta los rendimientos sino que también interfiere con la calidad de los mismos ocasionando contaminación con micotoxinas nocivas para la salud humana y animal (2,24).

Dentro de las micotoxinas que pueden estar presentes en granos de maíz se destacan las aflatoxinas, fumonisinas,

tricoteceno, toxinas T2, deoxynivalenol, ochratoxinas, citrinina, esterigmatocistina, patulina y zearelenona. Las toxinas de mayor importancia que se presentan en los granos de maíz son las aflatoxinas y fumonisinas, por su frecuencia y toxicidad (18,19,25).

Las aflatoxinas son producidas por *Aspergillus flavus* Link & Fries y *Aspergillus parasiticus* Speare; son unas de las toxinas más peligrosas, habiéndose demostrado que el consumo repetido de dosis bajas tienen un efecto mutagénico, teratogénico y cancerígeno en animales, además de ser letales a dosis altas. El consumo de alimentos contaminados con aflatoxinas ha sido correlacionado con cáncer hepático de algunas poblaciones humanas de África y Asia (23). Los niveles máximos permitidos de estas toxinas en alimentos concentrados diversos son de 20 ng/g, en alimentos concentrados para pollos de engorde 10 ng/g, en el consumo humano 20 ng/g y en leche 0,5 ng/g (4,9,26).

Las fumonisinas, producidas por *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Niremb. (syn. *F. moniliforme*) y *F. proliferatum*, han

sido relacionadas con algunas enfermedades específicas (leucoencefalomalacia equina, síndrome de edema pulmonar en porcinos y cáncer de esófago en humanos. Los niveles máximos de fumonisinas permitidos son 5 ng/g para equinos, 10 ng/g en alimentos para cerdos, 50 ng/g en alimentos para bovinos y 1 ng/g para consumo humano (8,23,26).

La predominancia de poblaciones fúngicas y de micotoxinas en los cereales está determinada por las condiciones ambientales imperantes en pre y postcosecha, zona geográfica, prácticas culturales y por las asociaciones con otros hongos contaminantes. Los genotipos de maíz han mostrado un comportamiento diferencial con relación a las condiciones ambientales imperantes en las principales zonas productoras y a la incidencia fúngica (14,16).

Son muchas las especies de mohos que pueden sintetizar micotoxinas en el cultivo de maíz, ya sea durante el desarrollo del cultivo o tras su cosecha, durante el transporte, el almacenamiento y el procesamiento. La temperatura, la humedad y la actividad de diferentes insectos son factores que pueden favorecer la diseminación, el crecimiento fúngico y la producción de micotoxinas. Las dos condiciones más importantes que están implicadas la invasión fúngica en precosecha y contaminación por micotoxinas son la ocurrencia simultánea de excesivas temperaturas del suelo y estrés por sequía en las fases tardías del cultivo (33,34). El uso de genotipos resistentes a la infección fúngica y la implementación de un sistema controlado de humedad del suelo disminuiría la incidencia de mohos y micotoxinas.

En Venezuela, se siembra maíz en seco y consistentemente se ha evidenciado la colonización de granos de maíz con *A. flavus* y *F. verticillioides* y la contaminación con aflatoxinas y fumonisinas (15,18,19).

La siembra de maíz en verano permitiría un uso más eficiente de la tierra, dado que un cultivo de consumo masivo, se podrían aumentar la producción anual, ya que la misma es deficitaria. Estudios previos del cultivo de maíz bajo riego han arrojado altos contenidos de aflatoxinas (20).

Los estudios de incidencia fúngica y la contaminación con micotoxina en maíz producido bajo riego en la época seca apuntan hacia la ocurrencia de condiciones pre-disponibles a la contaminación con aflatoxinas como pueden ser el estrés hídrico y las altas temperaturas (20,21). En tal sentido, el propósito de esta investigación fue determinar la influencia del riego y del genotipo sobre la incidencia natural de *A. flavus*, aflatoxinas, *F. verticillioides* y fumonisinas, en un grupo de cultivares de maíz blanco, en cuatro localidades de Venezuela.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Procedencia de las muestras.** Durante la época seca del año 2005 se recolectaron muestras de granos de diez híbridos comerciales o semi-comerciales de maíz, sembrados en ensayos irrigados en Sabana de Parra, estado Yaracuy, y en Agua Blanca y Santa Cruz de Turén, estado Portuguesa (diciembre 2005 - abril 2006). En la época seca del ciclo 2006-2007, se recolectaron muestras en un ensayo irrigado que incluyó cuatro híbridos comerciales y semi-comerciales y dos variedades (Tuxpeño sequía C-8 y La Posta sequía C-4) en San Javier, estado Yaracuy, todos materiales promisorios

por su resistencia a estrés hídrico (sequía). El método de riego fue por aspersión con frecuencia de aplicación semanal.

El diseño utilizado en cada ensayo fue bloques completos al azar con cuatro repeticiones en parcelas conformadas por dos hileras de 5 m de largo cada una, distancia entre hileras de 0,80 m y entre plantas de 0,25 m (40 plantas por parcela). Se cosecharon todas las plantas de cada parcela. Las muestras (1-2 Kg de granos) fueron tomadas del total cosechado por parcela, limpiadas manualmente y acondicionadas hasta 12 % de humedad para sus análisis.

**Detección, cuantificación e identificación de *A. flavus* y *F. verticillioides*.** Se utilizó el método de siembra directa de 100 granos intactos desinfectados (NaClO 3,27%/30 seg) por muestra, en la superficie del medio malta-sal-agar (pH 5,8), a razón de 10-12 granos / placa. Después de 7 d a 23±2 °C, los granos se examinaron bajo microscopio estereoscópico (18,29). Los resultados se expresaron como % de granos colonizados por *A. flavus* y *F. verticillioides* (26). Para calificar la incidencia de estas especies fúngicas se utilizó la escala propuesta por Mazzani *et al.* (18), según la cual la incidencia se califica como baja (0-15%), intermedia (16-30 %) y alta (>30 %). La confirmación de la identidad de los aislados de *A. flavus* y *F. verticillioides* se realizó por el método tradicional (28,29).

**Detección y cuantificación de aflatoxinas y fumonisinas.** El contenido de aflatoxinas y fumonisinas en Sabana de Parra, Agua Blanca y Santa Cruz de Turén se determinó por el método inmunoquímico con columnas de inmunoafinidad específicas para aflatoxinas B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub> (Aflatest) y fumonisinas B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub> (Fumonitest) (13,31). En San Javier la cuantificación de las aflatoxinas se realizó por ELISA (7) y las fumonisinas por el método inmunoquímico con columnas de inmunoafinidad específicas para fumonisinas B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub> (Fumonitest; 31).

**Tratamiento estadístico de los resultados.** Los resultados de incidencia de cada especie de hongos considerados en esta investigación, así como, los contenidos de aflatoxinas y fumonisinas fueron sometidos a ANOVA y comparación de medias de Duncan mediante el paquete estadístico SAS.

## RESULTADOS

**Sabana de Parra, estado Yaracuy: ciclo 2005-2006.** Las especies *A. flavus* y *F. verticillioides* fueron las de mayor frecuencia e incidencia en las muestras de esta localidad. Todos los genotipos sembrados excepto uno fueron colonizados por *A. flavus* y todos por *F. verticillioides*, aun cuando la incidencia de ambas especies fue inusualmente baja. Se encontraron diferencias significativas entre híbridos para incidencia de ambas especies de mohos y no significativas para contenidos de aflatoxinas y fumonisinas (Cuadro 1).

Solo un híbrido, P-30F94, presentó incidencia intermedia de *A. flavus*, resultando en la prueba de comparación de medias significativamente diferente de los demás, los cuales presentaron baja incidencia. TOC-370 no presentó contaminación con *A. flavus*. De forma análoga, la incidencia de *F. verticillioides* fue baja en todos los genotipos por lo que no es relevante discutir a cerca de las diferencias obtenidas en la comparación de medias. El híbrido que resultó más colonizado por *A. flavus* (P-30F94) fue el menos colonizado por *F. verticillioides*.

Cuadro 1. Incidencia de *Aspergillus flavus*<sup>(1)</sup> y *Fusarium verticillioides*<sup>(1)</sup> y contenido de aflatoxinas<sup>(3)</sup> y fumonisinas<sup>(4)</sup>, en granos de 10 híbridos de maíz.

| Híbrido    | AF <sup>(1)</sup>      | FV <sup>(1)</sup> | AFLA <sup>(3)</sup>  | FUM <sup>(4)</sup> |
|------------|------------------------|-------------------|----------------------|--------------------|
| P-30F94    | 16,75 a <sup>(2)</sup> | 1,00 c            | 10,93 <sup>(5)</sup> | nd <sup>(5)</sup>  |
| PORT-2002  | 7,75 b                 | 2,75 bc           | 4,75                 | nd                 |
| DK-93224   | 5,50 b                 | 7,25 ab           | nd                   | nd                 |
| SEF-98     | 4,75 b                 | 2,75 bc           | nd                   | nd                 |
| D-3273     | 3,50 b                 | 7,75 ab           | nd                   | nd                 |
| H-3002     | 1,50 b                 | 6,75 ab           | nd                   | nd                 |
| SK-198     | 0,75 b                 | 2,75 bc           | nd                   | nd                 |
| D-molinero | 0,50 b                 | 7,25 ab           | 0,81                 | nd                 |
| D-2002     | 0,25 b                 | 9,50 a            | 5,25                 | nd                 |

<sup>(1)</sup>Porcentaje de granos colonizados. <sup>(2)</sup>Las medias seguidas de la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de rangos múltiple de Duncan (a= 0,05). <sup>(3)</sup>ng/g. <sup>(4)</sup>µg/g. <sup>(5)</sup>No se realizó la prueba de comparación de medias. nd: no detectable.

Los contenidos de aflatoxinas fueron bajos en todas las muestras analizadas, con promedios desde 0 en cinco híbridos hasta 10,93 ng/g en el híbrido P-30F94, el cual presentó la mayor incidencia de *A. flavus*; del mismo modo, el híbrido PORT-2002 presentó la segunda más alta incidencia del moho y el segundo contenido más alto de aflatoxinas. Los contenidos de fumonisinas variaron desde 0 hasta 0,11 µg/g siendo P-30F94 de nuevo el híbrido más contaminado (Cuadro 1).

#### Agua Blanca, estado Portuguesa: ciclo 2005-2006.

En las muestras de esta localidad, *A. flavus* y *F. verticillioides* también fueron las especies con mayor frecuencia e incidencia. Todos los genotipos sembrados fueron colonizados por *A. flavus* y por *F. verticillioides* y, al igual que en las muestras de Sabana de Parra, la incidencia de *A. flavus* fue inusualmente baja. Se encontraron diferencias significativas entre híbridos para incidencia de ambas especies de mohos y no significativas para contenidos de aflatoxinas y fumonisinas. Dada la baja incidencia de *A. flavus* en todos los genotipos, no se consideró relevante comentar a cerca de las diferencias obtenidas en la comparación de medias. Para *F. verticillioides*, la incidencia fue alta solamente en el híbrido D-3273 (31,25%), intermedia en tres genotipos y baja en los restantes (Cuadro 2). Tal como ocurrió con las muestras de Sabana de Parra, el híbrido que resultó más colonizado por *A. flavus* (P-30F94) fue el menos colonizado por *F. verticillioides*.

Aun cuando no se realizó comparación de medias, la contaminación con aflatoxinas fue marcadamente diferente entre híbridos. La contaminación fue superior a 20 ng/g en DK-93224, PORT-2002 y P-30F94, así como fue considerable en otros cuatro genotipos aun sin exceder en estos la tolerancia establecida. Cinco genotipos no presentaron contaminación con fumonisinas, la misma fue despreciable en los restantes y fue máxima (0,37 µg/g) en D-3273 (Cuadro 2).

**Santa Cruz de Turén, estado Portuguesa: ciclo 2005-2006.** Al igual que en las localidades anteriores, *A. flavus* y *F. verticillioides* fueron las especies con mayor frecuencia e incidencia, y todos los genotipos sembrados fueron colonizados por las mismas. Se encontraron diferencias significativas entre híbridos para incidencia de ambas especies de mohos y no significativas para contenidos de aflatoxinas y fumonisinas. La incidencia de *A. flavus* fue alta en los genotipos P-30F94 y PORT-2002, los cuales en la comparación de medias fueron significativamente diferentes al resto de los materiales sembrados. Para *F. verticillioides*,

Cuadro 2. Incidencia *Aspergillus flavus*<sup>(1)</sup> y *Fusarium verticillioides*<sup>(1)</sup> y contenido de aflatoxinas<sup>(3)</sup> y fumonisinas<sup>(4)</sup>, en granos de 10 híbridos de maíz blanco cosechados bajo riego en Agua Blanca, estado Portuguesa, ciclo de verano 2005-2006.

| Híbrido    | AF <sup>(1)</sup>     | FV <sup>(1)</sup> | AFLA <sup>(3)</sup>  | FUM <sup>(4)</sup> |
|------------|-----------------------|-------------------|----------------------|--------------------|
| P-30F94    | 8,50 a <sup>(2)</sup> | 5,00 c            | 20,98 <sup>(5)</sup> | nd <sup>(5)</sup>  |
| D-2002     | 6,75 ab               | 7,00 c            | 7,75                 | nd                 |
| D-molinero | 6,75 ab               | 14,25 bc          | 6,52                 | nd                 |
| DK-93224   | 6,50 abc              | 16,00 bc          | 37,75                | nd                 |
| TOC-370    | 4,00 abc              | 9,00 c            | 3,50                 | nd                 |
| PORT-2002  | 3,75 abc              | 6,50 c            | 36,75                | nd                 |
| H-3002     | 3,50 bc               | 22,25 ab          | 17,24                | nd                 |
| D-3273     | 2,75 bc               | 31,25 a           | 0,50                 | 0,37               |
| SEF-98     | 2,75 bc               | 12,25 bc          | 13,55                | nd                 |
| SK-198     | 1,75 c                | 15,25 bc          | 10,38                | nd                 |

<sup>(1)</sup>Porcentaje de granos colonizados. <sup>(2)</sup>Las medias seguidas de la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de rangos múltiple de Duncan (a= 0,05). <sup>(3)</sup>ng/g. <sup>(4)</sup>µg/g. <sup>(5)</sup>No se realizó la prueba de comparación de medias. nd: no detectable.

la incidencia fue alta solamente en el híbrido D-3273 (46,50%), intermedia en tres genotipos y baja en los restantes. D-3273 fue el híbrido más colonizado en Agua Blanca y uno de los de mayor incidencia de ese moho en Sabana de Parra. Tal como ocurrió con las muestras de Sabana de Parra y de Agua Blanca, el híbrido más colonizado por *A. flavus*, P-30F94, fue el menos colonizado por *F. verticillioides* (Cuadro 3).

La contaminación con aflatoxinas fue notablemente diferente entre híbridos y fue mayor a 20 ng/g en P-30F94, H-3002, D-2002, SEF-98 y PORT-2002, cuyos contenidos de esas toxinas fueron marcadamente superiores a los encontrados en el resto de los genotipos, aun cuando no se realizó comparación de medias. La contaminación con fumonisinas fue baja en todas las muestras, excepto en las correspondientes al híbrido SK-198, en el cual se excedió la tolerancia de 1 µg/g establecida en algunos países para esas toxinas (23) (Cuadro 3).

**Análisis combinado de los resultados de Sabana de Parra, Agua Blanca y Santa Cruz de Turén: ciclo 2005-2006.** Con el fin de evaluar el efecto del ambiente y su posible interacción con el genotipo sobre las variables estudiadas se realizó el análisis combinado entre localidades. Se encontraron diferencias significativas entre híbridos para incidencia de *A. flavus* y *F. verticillioides*, entre localidades

Cuadro 3. Incidencia de *Aspergillus flavus*<sup>(1)</sup>, *Fusarium verticillioides*<sup>(1)</sup>, contenido de aflatoxinas<sup>(3)</sup> y fumonisinas<sup>(4)</sup> en granos de 10 híbridos de maíz blanco, cosechados bajo riego en Santa Cruz de Turén, estado Portuguesa, ciclo 2005-2006.

| Híbrido    | AF <sup>(1)</sup>      | FV <sup>(1)</sup> | AFLA <sup>(3)</sup>  | FUM <sup>(4)</sup> |
|------------|------------------------|-------------------|----------------------|--------------------|
| P-30F94    | 42,25 a <sup>(2)</sup> | 3,50 d            | 50,05 <sup>(5)</sup> | nd <sup>(5)</sup>  |
| PORT-2002  | 41,50 a                | 9,25 cd           | 38,25                | nd                 |
| DK-93224   | 18,25 b                | 6,25 d            | 2,26                 | nd                 |
| H-3002     | 17,25 b                | 21,75 bc          | 46,70                | 0,51               |
| SEF-98     | 13,00 b                | 15,00 bcd         | 43,75                | 0,36               |
| D-2002     | 9,00 b                 | 12,00 cd          | 44,78                | 0,25               |
| TOC-370    | 7,00 b                 | 21,25 bc          | 1,08                 | nd                 |
| D-molinero | 6,75 b                 | 26,50 b           | 5,40                 | nd                 |
| D-3273     | 5,00 b                 | 46,50 a           | 2,94                 | 0,32               |
| SK-198     | 2,25 b                 | 13,50 bcd         | 8,38                 | 1,71               |

<sup>(1)</sup>Porcentaje de granos colonizados. <sup>(2)</sup>Las medias seguidas de la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de rangos múltiple de Duncan (a= 0,05). <sup>(3)</sup>ng/g. <sup>(4)</sup>µg/g. <sup>(5)</sup>No se realizó la prueba de comparación de medias. nd: no detectable.

localidades, en la interacción híbrido x localidad para incidencia de *A. flavus* y *F. verticillioides*, mientras que para contenido de aflatoxinas y fumonisinas las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

La incidencia promedio de *A. flavus* en las tres localidades fue intermedia en P-30F94 y PORT-2002, con los mayores valores, y significativamente diferentes del resto de los híbridos. Para *F. verticillioides* el híbrido D-3273 fue el más colonizado, presentó incidencia intermedia y fue significativamente diferente del resto de los híbridos (Cuadro 4).

Aun cuando no se realizó comparación de medias, los contenidos promedios combinados de aflatoxinas fueron marcadamente diferentes entre genotipos. La contaminación fue mayor a la tolerada (20 ng/g) en P-30F94 y en PORT-2002, correspondiéndose con las mayores incidencias combinadas de *A. flavus*. En las muestras de los restantes híbridos varió desde 1,19 hasta 19,28 ng/g demostrándose que, en general, existen importantes diferencias entre los genotipos evaluados, cultivados bajo irrigación. La contaminación con fumonisinas, al igual que en los resultados de cada localidad, fue baja y no excedió la tolerancia de 1 µg/g establecida en algunos países para fumonisinas (23) (Cuadro 4).

Se encontraron diferencias significativas entre localidades para todas las variables en estudio. Las muestras de maíz provenientes de Santa Cruz de Turén, estado Portuguesa, presentaron las mayores incidencias promedio de *A. flavus* y de *F. verticillioides*, y fueron significativamente diferentes de las otras localidades para ambas variables. En el maíz de Agua Blanca se encontró la mayor contaminación promedio con aflatoxinas, la cual alcanzó 47,16 ng/g y, al igual que la contaminación promedio del maíz de Sta. Cruz de Turén, excedió la tolerancia de 20 ng/g. Los niveles de contaminación promedio con fumonisinas fueron bajos en las muestras de maíz de las tres localidades (Cuadro 5).

**San Javier estado Yaracuy: ciclo 2006-2007.** La especie *F. verticillioides* fue la de mayor frecuencia e incidencia en las muestras de los cultivares incluidos en esta localidad. En todos los genotipos sembrados la incidencia de este moho fue intermedia (Cuadro 6). En cambio, la incidencia de *A. flavus* fue inusualmente baja, siendo 1,25%

Cuadro 4. Incidencia promedio de *Aspergillus flavus*<sup>(1)</sup>, *Fusarium verticillioides*<sup>(1)</sup>, y contenido promedio de aflatoxinas<sup>(3)</sup> y fumonisinas<sup>(4)</sup> en granos de 10 híbridos de maíz blanco, cosechados bajo riego en Sabana de Parra, estado Yaracuy, y en Agua Blanca y Santa Cruz de Turén, estado Portuguesa, ciclo 2005-2006.

| Híbrido    | AF <sup>(1)</sup>      | FV <sup>(1)</sup> | AFLA <sup>(3)</sup>  | FUM <sup>(4)</sup> |
|------------|------------------------|-------------------|----------------------|--------------------|
| P-30F94    | 22,50 a <sup>(2)</sup> | 3,17 e            | 27,14 <sup>(5)</sup> | nd <sup>(6)</sup>  |
| PORT-2002  | 17,67 a                | 6,08 de           | 26,83                | nd                 |
| DK-93224   | 10,08 bc               | 9,83 cd           | 13,36                | nd                 |
| H-3002     | 7,41 bc                | 16,92 b           | 16,59                | nd                 |
| D-2002     | 6,17 bc                | 9,50 bcd          | 19,28                | nd                 |
| SE- 98     | 4,67 bc                | 15,92 bc          | 4,24                 | nd                 |
| D-molinero | 4,08 bc                | 9,08 de           | 19,16                | nd                 |
| D-3273     | 3,75 bc                | 28,50 a           | 1,19                 | 0,26               |
| TOC-370    | 3,67 bc                | 11,92 bcd         | 1,53                 | nd                 |
| SK-198     | 1,58 c                 | 10,50 cd          | 6,25                 | 0,58               |

<sup>(1)</sup>Porcentaje de granos colonizados. <sup>(2)</sup>Las medias seguidas de la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de rangos múltiple de Duncan ( $\alpha = 0,05$ ). <sup>(3)</sup>ng/g. <sup>(4)</sup>µg/g. <sup>(5)</sup>No se realizó la prueba de comparación de medias. nd: no detectable.

Cuadro 5. Incidencia promedio de *Aspergillus flavus*<sup>(1)</sup> y *Fusarium verticillioides*<sup>(1)</sup>, y contenido promedio de aflatoxinas<sup>(3)</sup> y fumonisinas<sup>(4)</sup> en granos de 10 híbridos de maíz blanco, cosechados bajo riego en Sabana de Parra, estado Yaracuy, y en Agua Blanca y Santa Cruz de Turén, estado Portuguesa, ciclo 2005-2006.

| Localidad       | AF <sup>(1)</sup>     | FV <sup>(1)</sup> | AFLA <sup>(3)</sup> | FUM <sup>(4)</sup> |
|-----------------|-----------------------|-------------------|---------------------|--------------------|
| Sabana de Parra | 4,13 b <sup>(2)</sup> | 5,30 c            | 2,20 c              | nd <sup>(5)</sup>  |
| Agua Blanca     | 4,95 b                | 13,88 b           | 14,20 a             | nd                 |
| Santa Cruz      | 15,40 a               | 17,25 a           | 24,31 b             | 0,40               |

<sup>(1)</sup>Porcentaje de granos colonizados. <sup>(2)</sup>Las medias seguidas de la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de rangos múltiple de Duncan ( $\alpha = 0,05$ ). <sup>(3)</sup>ng/g. <sup>(4)</sup>µg/g. <sup>(5)</sup>No se realizó la prueba de comparación de medias. nd: no detectable

el mayor valor. El análisis de varianza arrojó diferencias significativas para contenido de aflatoxinas y fumonisinas y no significativas entre los genotipos para incidencia de *A. flavus* y *F. verticillioides*.

La variedad Tuxpeño Sequía C8 fue el cultivar que presentó el mayor contenido de aflatoxinas (121,08 ng/g) siendo significativamente diferente del resto de los materiales, mientras que el híbrido La posta Sequía C4 fue la de menor contaminación (1,85 ng/g), pero no fue distinto de D-3273 y D-2002. Los contenidos de fumonisinas variaron desde no detectable en tres cultivares hasta 2,69 µg/g en Tuxpeño Sequía C8 (Cuadro 6).

## DISCUSIÓN

Una de las grandes ventajas de la agricultura tropical en comparación con la agricultura de regiones con cuatro estaciones climáticas es que, teóricamente, se puede cultivar durante todo el año. Esto, lógicamente, está sujeto a la disponibilidad de una suplencia adecuada de agua para riego. La producción de maíz en Venezuela se ha limitado a la estación lluviosa, que tradicionalmente se extendía entre los meses de mayo y septiembre en áreas maiceras como los llanos occidentales y entre los meses de junio y octubre en el estado Guárico. Importantes alteraciones en el inicio y en la duración de estos períodos se han observado en los últimos diez años (10,12), lo cual ha generado gran incertidumbre en la selección de la época de siembra del maíz en Venezuela, así como graves implicaciones en la producción. Además, en la agricultura de secano solo ha sido posible una cosecha de maíz al año con uso ineficiente de la tierra.

Algunos intentos de producción de maíz bajo riego se realizaron durante los años 2001 y 2002 en la colonia agrícola

Cuadro 6. Incidencia de *Aspergillus flavus*<sup>(1)</sup>, *Fusarium verticillioides*<sup>(1)</sup>, contenido de aflatoxinas<sup>(3)</sup> y fumonisinas<sup>(4)</sup> en granos de 10 híbridos de maíz blanco, cosechados bajo riego en San Javier, estado Yaracuy, ciclo 2006-2007.

| Híbrido            | AF <sup>(1)</sup>   | FV <sup>(1)</sup>    | AFLA <sup>(3)</sup>     | FUM <sup>(4)</sup> |
|--------------------|---------------------|----------------------|-------------------------|--------------------|
| Tuxpeño Sequía C8  | 1,00 <sup>(5)</sup> | 17,25 <sup>(5)</sup> | 121,08 a <sup>(2)</sup> | 2,69 a             |
| D-022001           | 0,50                | 19,50                | 77,98 ab                | nd c               |
| P-30F94            | 1,25                | 14,00                | 12,15 bc                | nd c               |
| D-3273             | 0,00                | 21,75                | 2,68 c                  | nd c               |
| D-2002             | 0,50                | 24,25                | 0,55 c                  | 1,30 bc            |
| La posta Sequía C4 | 0,00                | 24,00                | 0,23 c                  | 1,85 ab            |

<sup>(1)</sup>Porcentaje de granos colonizados. <sup>(2)</sup>Las medias seguidas de la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de rangos múltiple de Duncan ( $\alpha = 0,05$ ). <sup>(3)</sup>ng/g. <sup>(4)</sup>µg/g. <sup>(5)</sup>No se realizó la prueba de comparación de medias. nd: no detectable.

de Turén y otras localidades del estado Portuguesa. Durante 2001, la cosecha fue rechazada en su totalidad por la empresareceptora debido a que las concentraciones de aflatoxinas en los granos excedieron los 20 ng/g, tolerancia establecida para maíz en Venezuela (Capobianco, A. 2001, comunicación personal) y el análisis de las muestras recolectadas durante la cosecha en explotaciones comerciales en la Colonia Agrícola de Turén arrojó que algunas de ellas presentaron contaminación de hasta 60 ng/g (18). Durante 2002, la contaminación con aflatoxinas fue menor aunque diversas muestras cosechadas en el estado Portuguesa excedieron los 20 ng/g (19).

En esta investigación, las especies *A. flavus* y *F. verticillioides* fueron los de mayor frecuencia e incidencia en las muestras de granos de maíz en todas las localidades bajo estudio. Esto ha sido una constante en investigaciones previas, realizadas durante los últimos quince años en las áreas productoras de maíz de secano más importantes en Venezuela, las cuales incluyeron ensayos experimentales, explotaciones comerciales y días de campo (13,16,17,20), así como en otras áreas maiceras de América Latina (2,3,7,30,32).

Los resultados obtenidos con relación a la incidencia de *A. flavus* en las muestras colectadas en los ensayos desarrollados en Sabana de Parra, estado Yaracuy, y en Agua Blanca y Santa Cruz de Turén, estado Portuguesa, resultaron inconsistentes y hasta contradictorios con relación a resultados previos obtenidos sobre muestras de siembras experimentales y comerciales realizadas en las mismas localidades durante la estación lluviosa (13,16,17). En la mayoría de las muestras provenientes de los mencionados ensayos se determinó una incidencia inusualmente baja de esa especie de moho con excepción de algunas muestras cosechadas en el ensayo de Santa Cruz de Turén. Altos contenidos promedio de aflatoxinas fueron encontrados en algunas muestras en ambas localidades del estado Portuguesa. En algunos casos, como en las muestras de los híbridos P-30F94 y PORT-2002, los altos contenidos de aflatoxinas se correspondieron con altas incidencias de *A. flavus*, mientras que otros híbridos con altos contenidos de aflatoxinas presentaron baja o intermedia incidencia del hongo. Algunos autores han sugerido que existen mecanismos genéticos distintos que regulan la susceptibilidad a la especie fúngica como la biosíntesis de aflatoxinas (3). Por otro lado, siempre está presente la posibilidad de la ocurrencia de cepas del hongo con marcadas diferencias en su capacidad toxigénica como ha sido comprobado de manera consistente en estudios *in vitro* con aislados del moho provenientes de maíz en Venezuela (22), por lo que bajas incidencias del moho pueden corresponderse con altos contenidos de aflatoxinas en los granos y viceversa.

Con pocas excepciones, la incidencia predominante de *F. verticillioides* fue de baja hacia intermedia en la mayoría de los híbridos en las tres localidades en el ciclo 2005-2006. La mayor incidencia del moho (46,50%) se determinó en Santa Cruz de Turén, en las muestras del híbrido D-3273, aún cuando la media general de este genotipo en las tres localidades fue 28,50%. A pesar de la incidencia observada de esta especie de moho en ambas localidades del estado Portuguesa, en general, la misma se correspondió con contenidos no detectables de fumonisinas en los granos. Resultados de investigaciones con relación al efecto *in vitro* de la actividad de agua en los granos sobre la incidencia de esta especie de moho y la síntesis de fumonisinas

demonstraron que ambos parámetros se ven favorecidos con incrementos en la actividad del agua (17). Sin embargo, incrementos en la actividad del agua (17). Sin embargo, la incidencia del moho y, sobre todo, la contaminación con fumonisinas ha sido considerablemente mayor en granos cosechados en parcelas de secano donde la suplenia de agua se supone más irregular (15,18,19). En los análisis de varianza se corroboró un marcado efecto ambiental en el comportamiento de los genotipos. Cuando se comparó la incidencia *A. flavus* y *F. verticillioides*, y la contaminación de los granos con aflatoxinas entre localidades, las tres variables fueron significativamente mayores en Santa Cruz de Turén, estado Portuguesa (Cuadro 5). Además de la suplenia de agua, otros factores están envueltos en la colonización de los granos y en la consecuente contaminación con aflatoxinas. La temperatura, la disponibilidad de algunos metales en el suelo, la capacidad toxigénica de los mohos y la incidencia de plagas son algunos de ellos (17,22,27).

En el ensayo conducido durante la época seca del año 2006 en la localidad de San Javier, estado Yaracuy, se encontró una incidencia despreciable de *A. flavus*, resultado contradictorio cuando se compara con resultados arrojados por distintas investigaciones realizadas en esta localidad durante la época lluviosa de años anteriores (18). La inusualmente baja incidencia de *A. flavus* se correspondió con elevados contenidos de aflatoxinas en algunos cultivares. El cultivar Tuxpeño Sequía C<sub>8</sub>, seleccionado por su alta tolerancia a estrés hídrico, presentó la mayor contaminación con aflatoxinas, lo cual contradice resultados de algunas investigaciones según los cuales la resistencia a sequía se relaciona con la resistencia a la infección y a la síntesis de aflatoxinas (5,6). Por otro lado, la incidencia de *F. verticillioides* fue de baja a intermedia y muy similar en todos los genotipos evaluados en esta localidad, correspondiendo los mayores contenidos de fumonisinas a los dos cultivares incluidos por su tolerancia a sequía. Resultados de investigaciones previas demostraron que la infección de los granos por *F. verticillioides* y la contaminación con fumonisinas se ve favorecida con altos valores de actividad de agua en los granos (17).

Finalmente, los resultados de este estudio en maíz producido bajo riego en la época seca apuntan, en algunos casos, hacia la ocurrencia de condiciones pre-disponentes a la contaminación con aflatoxinas como ocurrió con algunos genotipos en Santa Cruz de Turén y San Javier. Sin embargo, la consistencia de los resultados obtenidos con otros genotipos, en comparación con las parcelas de maíz bajo riego evaluadas durante el año 2001, indica que es posible la producción de maíz bajo riego libre de aflatoxinas. Para ello será necesaria la selección correcta del genotipo para una determinada zona de producción, el control estricto del riego a fin de optimizar el contenido de humedad para cada suelo y por supuesto el mejor manejo posible de otras variables agronómicas. Nuevas investigaciones son necesarias para confirmar los resultados obtenidos y profundizar los conocimientos sobre esa propuesta de producción de maíz en Venezuela.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela, Proyecto N° PG 01 37 4948 2002, por los aportes financieros que hicieron posible esta investigación.

## LITERATURA CITADA

1. Angelo, M. 1997. Accumulations of fumonisins in maize hybrids inoculated under field conditions with *Fusarium moniliforme* Sheldon. *J. Sci. Food Agric.* 74: 1-6.
2. Bean, G. A. and Echandi, R. 1989. Maize mycotoxins in Latin America. *Plant Dis.* 73: 597-600.
3. Brown, R.L., Chen, Cleveland, T.E., and Russin, J.S. 2001. Advances in the development of host resistance in corn to aflatoxin contamination by *Aspergillus flavus*. *Phytopathology* 89: 113-117.
4. Cárdenas, O. y Plata, O. 1982. Evaluación de aflatoxina B1 en maíz del Departamento de Meta. *Tecnología* 159: 34 - 43.
5. Chen, Z-Y., Brown, R.L., and Cleveland, T.E. 2004. Evidence for an association in corn between stress tolerance and resistance to *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination. *African Journal of Biotechnology* 3: 693-699.
6. Chen, Z-Y., Brown, R.L., Damann, K.E., and Cleveland, T.E. 2004. Identification of a maize kernel stress-related protein and its effect on aflatoxin accumulation. *Phytopathology* 94: 938-945.
7. Chu, F.S., Trucksess, M.W. and Park, D.L. 1989. Evaluation by enzyme-linked immunosorbent assay for thin-layer chromatography of aflatoxin B<sub>1</sub> in corn, peanuts and peanut butter. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 71: 126.
8. Chulze, S., Ramírez, M., Farnochi, M., Angelo, M. and March, G. 1996. *Fusarium* and Fumonisin occurrence in Argentinian corn at different ear maturity stages. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2797-2801.
9. Dowling, T. S. 1997. Fumonisin and its toxic effects. *Cereal foods world* 42: 13-15.
10. Duvick, J. 2001. Prospects for reducing fumonisin contamination of maize through genetic modification. *Environmental Health Perspectives* 109: 337-342.
11. Fontana, H. y González, C. (Compiladores). 2000. El maíz en Venezuela. Caracas, Venezuela. Fundación Polar. 530 pp.
12. Guenni, L., Degryze, E. y Alvarado, K. 2008. Análisis de la tendencia y la estacionalidad de la precipitación mensual en Venezuela. *Revista Colombiana de Estadística* 31: 41-65.
13. Hansen, T. J. 1993. Quantitative testing for mycotoxin. *J. American Ass. Cereal Chem.* 38: 346-348.
14. Jones, R. K., Duncan, H. E. and Hamilton, P. B. 1981. Planting date, harvest date, and irrigation effects on infection and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in field corn 1981. *Phytopathology* 71: 810-811.
15. Luzón, O., Chavarri, M., Mazzani, C., Barrientos, V. y Alezones, J. 2007. Principales mohos y micotoxinas asociadas a granos de maíz en campos de los Estados Guárico, Portuguesa y Yaracuy, Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 20: 25-30.
16. Magan, N. 2000. Ecology and potential control of mycotoxigenic fungi and mycotoxins in cereals. En resumen de memorias del III Congreso Latinoamericano de Micotoxicología. Córdoba, Argentina. p 11.
17. Marín, S., Albareda, X., Ramos, A.J., and Sanchis, V. 2001. Impact of environment and interactions of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* with *Aspergillus parasiticus* on fumonisin B<sub>1</sub> and aflatoxin in maize grain. *J. Sci. Food Agric.* 81: 1060-1068.
18. 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.
19. Mazzani, C., Borges, O., Luzón, O., Barrientos, V. and Quijada, P. 2001. Occurrence of *Fusarium moniliforme* and fumonisins in kernels of maize hybrids in Venezuela. *Brazilian Journal of Microbiology* 32: 345-349.
20. Mazzani, C., Luzón, O. y Figueroa, R. 2001. Incidencia de *Aspergillus flavus* y aflatoxinas en los granos de híbridos de maíz bajo riego en Turén, estado Portuguesa. *Fitopatol. Venez.* 14: 61 (Resumen).
21. Mazzani, C., Luzón, O., Chavarri, M., González, C. y Garrido, M. J. 2003. Occurrence of *Aspergillus flavus* y aflatoxinas en maíz en ensayos bajo riego en los estados Yaracuy y Portuguesa durante 2002. *Fitopatol. Venez.* 16: 60. (Resumen).
22. Mazzani, C., Luzón, O., Beomont, P. y Chavarri, M. 2004. Micobiota asociada a granos de maíz en Venezuela y capacidad aflatoxigénica *in vitro* de los aislamientos de *Aspergillus flavus*. *Fitopatol. Venez.* 17: 19-24.
23. Norred, W. P. and Voss, K.A. 1994. Toxicity and role of fumonisins in animal diseases and human esophageal cancer. *Journal of Food Protection* 57:522-527.
24. Pascale, M., Visconti, A., Pronoezuk, 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.
25. Payne, G. A. 1998. Aflatoxin accumulation in inoculated ears of field-grown maize. *Plant Dis.* 72: 422-424.
26. Payne, G. A. 1999. Ears and Kernel Rots. In *Compendium of corn Disease*. D. G. White (ed). Minnesota. APS Press. pp. 44-49.
27. Raybaudi, R., Mazzani, C., Benítez, I., Martínez, A., Luzón, O. y González, C. 2005. Relación entre la concentración de hierro, cobre y zinc, y la incidencia de *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, aflatoxinas y fumonisinas en maíz. *Fitopatol. Venez.* 18: 15-19.
28. Samsom, R., Hoekstra, E., Frisvad, J. and Filttenborg, O. 1995. Introduction to food-borne fungi. 4<sup>th</sup>ed. Wageningen, The Netherlands Ponsen and Looyen. 322 pp.
29. Singh, K., Frisvad, J.C., Thrane, U. and Mathur, S.B. 1991. An illustrated manual on identification of seed-borne Aspergilli, Fusaria and Penicillia and their micotoxins. Hellerup, Denmark. Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries. pp. 6 - 7.
30. Shelby, R. A. 1994. Differential Fumonisin production in maize hybrids. *Plant Dis* 78: 582-584.
31. Trucksess, M. 1996. Evaluation and Application of Immunochemical Methods for Fumonisin B<sub>1</sub> in Corn. In *Immunoassays for Residue Analysis: Food Safety*. R.C. Beier and L.H. Stanker (eds.). Washington. ACS Symposium Series 621. pp. 326 - 332.
32. Viquez, O., Castell-Perez, M. and Shelby, R. 1996. Occurrence of Fumonisin B1 in maize grown in Costa Rica. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2789-2791.
33. Wicklow, D. T., Horn, B., Shotwell, O. L., Hesseltine, C. W. and Caldwell, R. W. 1988. Fungal interference with *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination of maize grown in a controlled environment. *Phytopathology* 78: 68-74.
34. Widstrom, N. W. 1996. The aflatoxin problema with corn grain. *Advances in Agronomy* 56:219-280.