

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
PROGRAMA DE ESTUDIOS PARA GRADUADOS
INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

21

TRABAJO ESPECIAL

INCIDENCIA DE HONGOS EN GRANOS ALMACENADOS EN BODEGAS
EN FONTIBON (CUNDINAMARCA)

Por: Leda Beatriz Mendoza S.

Bogotá, septiembre
1983

INTRODUCCION

Granos como el maíz, el fríjol, el trigo, el arroz, la cebada, el sorgo, la lenteja, la soya, etc., constituyen fuente alimenticia para la población colombiana, de materia prima en procesos industriales y en la alimentación animal.

La producción de granos tiende a incrementarse constantemente para cubrir las necesidades de amplios sectores de la población y cada día se almacenan grandes volúmenes en silos y bodegas, durante períodos que varían de acuerdo con su comercialización,

El almacenaje de granos se sujeta a factores limitantes, debido al ataque de insectos, roedores, ácaros y hongos que ocasionan pérdidas en la calidad del grano, las cuales se traducen en pérdidas económicas para el agricultor, el avicultor y para el consumidor en general.

La magnitud de las pérdidas varía según las regiones, los países y las épocas, pero en general, se considera que en países con agricultura desarrollada, las pérdidas en postcosecha son menores

(5%) que en aquellos de economías dependientes donde se estima que se pierde un 30% de todos los granos cosechados antes de su consumo; lo cual, llevado a cifras nos daría una suma considerable, con la cual cualquier país podría cubrir otros programas de desarrollo.

En nuestro país, es poca la atención que se presta a las condiciones de almacenamiento de granos, restringiéndola solo a los daños que ocasionan insectos y roedores por cuanto éstos son detectables y las pérdidas que ocasionan también pueden estimarse. No ocurre igual con los problemas ocasionados por hongos, debido a que éstos no pueden detectarse sino en etapas finales del daño y porque es difícil estimar las pérdidas que ocasionan. Sin embargo, los problemas de micotoxicosis que se presentan en la avicultura están llamando a la necesidad de conocer y determinar la calidad y condición del grano con que se preparan los concentrados. También es de consideración determinar la calidad y condición del grano que la población está consumiendo, debido a que estas micotoxinas representan un problema en la salud pública.

Christensen y Kaufman (10) consideran que los hongos ocasionan

los siguientes tipos de daños en granos y semillas durante el almacenamiento: 1. Reducen la germinación de las semillas; 2. Producen calentamiento; 3. Manchan el embrión; 4. Producen cambios bioquímicos (cambio en la acidez de las grasas); 5. Reducen el peso del grano; 6. Producen toxinas que ocasionan micotoxicosis en humanos y animales que consumen alimentos contaminados.

La situación geográfica de Colombia, da lugar a condiciones ecológicas propicias para la invasión de hongos de almacén en granos o alimentos, si no se les brinda a éstos el manejo adecuado desde su cosechamiento hasta cuando sean utilizados. Estas mismas condiciones ecológicas de alta humedad relativa y altas temperaturas en algunas zonas de acopio, también son ideales para que

Aspergillus flavus y otras especies de hongos de almacén produzcan cantidades apreciables de aflatoxinas. Por ello, el presente trabajo se planteó con los siguientes objetivos:

1. Evaluar las condiciones de almacenamiento determinando grado de afección fungosa y contenido de humedad de los granos almacenados en bodegas en Fontibón (Cundinamarca, Colombia).

2. Identificar las especies de hongos presentes en las muestras.

3. Aislar especies de Aspergillus flavus y probar su toxigenicidad en un medio natural.

MATERIALES Y METODOS

Origen de las muestras

Las muestras se tomaron de las bodegas del IDEMA en Fontibón y comprendieron todo tipo de granos almacenados (maíz, trigo, arroz, sorgo, fríjol, lentejas) para un total de 16 muestras. No se registró contenido de humedad del grano en el almacén, ni la procedencia de los mismos.

La identificación de las especies de hongos y el contenido de humedad, así mismo los ensayos de detección de aflatoxinas se realizaron en los Laboratorios del PEG-Tibaitatá- e ICA-Mosquera.

Determinación del contenido de humedad

Se pesaron 10 gr de cada muestra y se colocaron en estufa a 103°C durante tres días, al cabo de los cuales se pesó nuevamente. El contenido de humedad se determinó por diferencia de peso.

Determinación del grado de afección fungosa

De cada muestra se tomaron 100 granos, se desinfectaron con Hipoclorito de sodio al 5% durante un minuto, se lavaron dos veces con agua destilada estéril y se sembraron a razón de 10 granos por cajas que contenían Malta-Sal-Agar. Se incubaron en estufa a 27°C durante 7 días, al cabo de los cuales se hizo la lectura.

Identificación de las especies de hongos

Cada especie de hongo que creció sobre el grano fue identificado según claves establecidas para los géneros correspondientes (24). Las especies de *Aspergillus* se aislaron en Agar-Ckapek.

Ensayo de producción de aflatoxina sobre un medio natural

Se aislaron cinco cepas de *Aspergillus flavus*, las cuales se enumeraron como 1, 2, 3, 4, 5; la mayor parte de maíz, frijol y sorgo. Se colocaron en un medio especial para esporulación (1) y transcurrido cuatro (4) días se inocularon a un medio natural, maíz harinoso, al cual se le hizo un previo análisis de aflatoxina. El maíz se partió, se pesó 100 gramos, los cuales se colocaron

en un erlenmeyer de 250 ml, se humedeció y esterilizó. En condiciones asépticas se inoculó cada cepa, dejando un testigo. Los frascos se colocaron en estufa a 30°C durante 8 días al cabo de los cuales, el maíz se secó en estufa a 100°C durante dos días. Una vez seco, se molió finamente y se procedió a hacer el análisis de aflatoxina, según el método de Shannon (23).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados del presente trabajo señalan que la afección más alta correspondió a las muestras de trigo nacional, sorgo y maíz amarillo. En la Tabla 1, se registra el porcentaje de humedad y afección de las muestras trabajadas.

Los altos contenidos de humedad que presentaron algunas muestras explican los altos porcentajes de afección fungosa en comparación con muestras que tenían contenidos de humedad más bajos.

Las especies de hongos de almacén más prevalentes fueron: Aspergillus glaucus, A. flavus, A. tamaritii, A. candidus, A. terreus, A. niger, Penicillium sp, Absidia sp. Hongos de campo como Curvularia, Fusarium fueron aislados principalmente de maíz y sorgo. En la Tabla 2 se recoge la prevalencia de las especies de hongos en cada muestra trabajada.

La prevalencia de un 100% de Aspergillus glaucus en el trigo nacional y de un 75% en sorgo, es un indicativo que estas muestras se hallaban en malas condiciones de almacenamiento y en cierto modo deterioradas, hecho que puede no ser visible.

TABLA 1. Porcentaje de humedad y afección de las muestras

Muestras	% de humedad	% de afección
Maíz amarillo 1	16	78
Maíz amarillo 2	17.5	73
Maíz amarillo 3	15	61
Maíz amarillo 4	15.8	76
Maíz amarillo 5	15	74
Maíz amarillo 6	17	85
Trigo nacional 1	18	100
Trigo nacional 2	18	98
Trigo nacional 3	18.5	90
Sorgo nacional	17.5	100
Maíz blanco trillado	14.5	12
Maíz blanco nacional 1	14	32
Maíz blanco nacional 2	15	50
Lentejas	13.5	0
Arroz blanco pulido	13.5	0
Frijol	17	32

TABLA 2. Prevalencia de las especies de hongos en cada muestra

Especies de hongos	Maíz amarillo						Trigo nacional			Maíz blanco		Frijol		
	1	2	3	4	5	6	Sorgo	1	2	3	Tr		1	2
<u>Aspergillus glaucus</u>	47	-	15	-	-	-	75	100	100	100	12	12	30	15
<u>Aspergillus flavus</u>	15	20	2	10	42	30	1	-	-	-	-	10	8	20
<u>Aspergillus parasiticus.</u>	2	2	1	-	-	3	1	-	-	-	-	-	1	2
<u>Aspergillus tamarii</u>	2	-	-	10	1	30	2	-	-	-	-	-	-	10
<u>Aspergillus candidus</u>	-	-	-	-	-	8	20	-	-	-	-	-	-	-
<u>Aspergillus terreus</u>	2	-	-	4	-	5	15	-	-	-	-	-	-	-
<u>Aspergillus niger</u>	1	-	2	4	2	1	3	-	-	-	-	-	2	-
<u>Penicillium sp.</u>	11	-	3	15	-	10	5	-	-	-	-	-	1	-
<u>Absidia sp.</u>	3	-	5	-	20	-	4	-	-	-	-	5	6	-
<u>Fusarium moniliforme</u>	-	51	3	10	8	15	3	-	-	-	-	2	3	-
<u>Fusarium sp.</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
<u>Chaetomium sp.</u>	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>Curvularia sp.</u>	-	-	2	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-

Las muestras de lenteja y arroz presentaron 0% de afección fungosa.

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CALIFORNIA

Si bien es cierto que estas especies no han sido reportadas como toxigénicas (7), si demeritan la calidad del grano para procesos industriales y propician condiciones para el establecimiento de especies como A. candidus y A. flavus que reducen significativamente la germinación de las semillas y producen calentamiento durante el almacenamiento.

La presencia de cleistotecios de A. glaucus sobre el grano corrobora que estas muestras han estado almacenadas por lo menos durante seis semanas a 18°C y a contenidos de humedad del grano entre 16-17% (12), condiciones necesarias para la formación de estos cuerpos fructíferos.

La prevalencia de A. candidus en sorgo nacional (20%), podría llevarnos a considerar que el grano estuvo almacenado con anterioridad en zonas donde se registran altas temperaturas y humedades relativas superiores al 80%; el contenido de humedad del grano registrado en el ensayo corresponde con el contenido de humedad necesario para el desarrollo de esta especie (10). También señala la necesidad de disminuir la humedad del grano para evitar un brusco calentamiento que traería graves consecuencias

y pérdidas considerables. La actividad metabólica de A. candidus favorece el establecimiento de A. flavus, A. niger, A. terreus y de otras especies que necesitan de mayor contenido de humedad y mayor temperatura (11), apreciación que se ve confirmada con la presencia de estas especies en las muestras de sorgo.

La presencia de Aspergillus flavus en las muestras de maíz amarillo, sorgo y frijol evidencia malas condiciones de almacenamiento. Las especies de A. flavus necesitan de contenidos de humedad del grano entre 18,0 - 18,5% para maíz y trigo (10), aunque puede iniciar su establecimiento un poco por debajo de estos contenidos de humedad en otros granos (3), pero se hace prevalente por encima del 18% (19).

Algunas especies de Aspergillus flavus son productores de aflatoxinas (7) (14) (15) (21); ocasionan calentamiento y reducen significativamente la germinación de las semillas (10) (17).

La simple presencia de A. flavus no es indicativo para presumir que las muestras estén contaminadas con aflatoxinas (20), porque este hongo necesita de condiciones especiales para producir cantidades estimables de la toxina y además existen cepas no

toxigénicas. Drener and Davis (15), consideran como factores que pueden incidir en la producción de aflatoxina por A. parasiticus el tipo de sustrato, la cepa del hongo, los daños ocasionados por insectos a los granos, la humedad y temperatura, el tiempo de almacenamiento y la actividad de otros microorganismos. Estos factores deben analizarse al tener muestras que presentan una alta prevalencia de A. flavus y muy poca o ninguna contaminación de aflatoxina; o contrariamente, baja presencia de A. flavus y altos niveles de la toxina (15).

Por lo general, A. flavus se encuentra en granos y semillas asociado con otros microorganismos tales como A. glaucus, A. niger, A. terreus, A. ochraceus, Penicillium, principalmente con los cuales puede competir por el sustrato (15); como resultado de esa actividad competitiva, algunas especies podrían limitar su crecimiento y otras reducir la producción de aflatoxina, o descomponerla a niveles bajos (2) (4) (5) (13) (20) (22) (25). Por ello, debe darse un diagnóstico preciso de la población microbiana de una muestra analizada, ya que ello ayudaría a explicar su baja o no contaminación por aflatoxina.

La presencia de A. terreus y A. niger tanto en maíz como en sorgo corrobora las malas condiciones de almacenamiento bajo las cuales han estado estas muestras. La actividad de estas especies se presenta cuando otros microorganismos ya han aumentado temperatura y humedad del grano (10).

Especies de A. niger están consideradas como productoras de aflatoxina B₁ y de otro tipo de metabolito (7), que ocasionan micotoxicosis en animales (9) 21). Esto conlleva a reconocer la población fungosa cuando se encuentran muestras contaminadas con aflatoxinas, ya que otros microorganismos diferentes a A. flavus pueden estar involucrados.

A. terreus es un contaminante de granos y alimentos que están expuestos a altas temperaturas y humedades relativas entre 90-95%, y es considerado como productor de una micotoxina, el ácido terreico. Su prevalencia en las muestras de sorgo fué del 15%.

Otras especies de hongos de almacén como Penicillium fueron prevalentes en un 15% en maíz amarillo, indicando que han estado almacenadas por tiempos considerables y con grado de afección

por otras especies de hongos. Penicillium mata y mancha el embrión, puede estar involucrado en los primeros estados de calentamiento; causa el ojo azul del maíz almacenado con un contenido de humedad del 18.5% (10). Algunas especies pueden iniciar su infección desde el campo; otras producen in vitro varios tipos de aflatoxinas y ochratoxinas (14) (21) (26).

La prevalencia de Fusarium moniliforme en maíz amarillo asociada a la presencia de A. flavus señalan que han estado almacenadas en zonas donde se registran humedades relativas superiores al 87%, condición necesaria para su desarrollo (3) y un contenido de humedad en el grano del 18% (10).

Puede decirse que las muestras de maíz, sorgo, trigo acusan malas condiciones de almacenamiento anterior y si el grano va a estar más tiempo almacenado, es necesario tomar medidas que eviten el desarrollo de otras especies de hongos de almacén e inhiben las ya presentes; eviten el calentamiento y la producción de micotoxinas, ya que estos hongos pueden continuar su desarrollo y producir toxinas a bajas temperaturas 12°C por ejemplo (14) (15) (21).

El ensayo sobre la producción de aflatoxina dió resultados negativos para las cepas 1, 2, 3, y una ligera fluorescencia para la cepa 4. Identificadas cada una de ellas, las cepas 1, 2, correspondieron a Aspergillus tamarii, la cual está considerada como una especie no toxigénica, pero que afecta drásticamente la germinación de la semilla (17). La cepa 3 y 4 correspondieron a Aspergillus flavus y la 5 a A. parasiticus. La cepa 3 es una cepa de A. flavus que produce esclerosis tanto en Agar Ckapek como sobre el grano de maíz colocado en M.S.A. La cepa correspondiente a A. parasiticus no pudo procesarse debido a que se contaminó.

Es necesario continuar aislando especies de A. flavus, A. niger, Penicillium y otras especies de hongos toxigénicos de granos y alimentos y probar su toxigenicidad en medios naturales como maní, nuez del brazil y arroz, ya que estos medios son propicios para una buena producción de aflatoxina (8) (14) (18) (21) (23); y continuar con maíz porque además de ser un producto de consumo amplio, en él se ha encontrado ocurrencia en pre y postcosecha (8) y los niveles más altos de aflatoxina en muchos países (16).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. AUSTWICK, PK. C. Pathogenicity. En: The genus Aspergillus. Nueva York. Krieger Publishing Company. 1977.
2. ASWORTH, L. J. Jr.; SCHROEDER, H. W.; LANGLE, Y, B. C. Aflatoxins: Environmental factors governing occurrence in Spanish peanuts. *Science* 148:1228-1229.
3. ARMOLIK, N.; DICKSON, J. G. Minimum humidity requirement for germination of conidia of fungi associated with storage of grain. *Phytopathology* 49:462-465.
4. BOLLER, R. A.; SCHROEDER, H. W. Influence of Aspergillus candidus on production of aflatoxin in rice by Aspergillus parasiticus. *Phytopathology* 64:121-123.
5. _____; _____. Influence of Aspergillus chevalieri on production of aflatoxin in rice by A. parasiticus *Phytopathology* 63:1507-1510.
6. _____; _____. Influence of H.R. on production of aflatoxin in rice by A. parasiticus. *Phytopathology* 64:17-21.
7. BROOK, P.J.; WHITE, E. P. Fungus toxins affecting mammals. *Ann. Rev. Phytopathology* vol. 4, 1974.
8. COKER, R.D. Aflatoxin: past, present and future. *Trop. Sci.* 1979.
9. CHRISTENSEN, C. M.; MIROCHA, C. J.; MERONUCK. *Molds, micotoxins and micotoxicosis*.
10. _____; KAUFMAN, H. H. *Microflora. En: Storage of cereal grains and their products*. Minnesota. American Association of cereal chemist. 1974.

11. CHRISTENSEN, C. M. Influence of moisture content, temperature and time of storage upon invasion of rouge rice by storage fungi. *Phytopathology* 59:145-148.
12. _____; KAUFMAN, H. H. Contaminación por hongos en granos almacenados. México, Editorial Pax-México 199 p. 1976.
13. DENIZEL, T.; ROLFE, E. J.; JARVIS, B. Moisture-equilibrium relative humidity relationships in pistachio nuts with particular regard to control of aflatoxin formation. *Journal of Science Food and Agr.* no. 27:10-27. 1976.
14. DETROY, R. W.; LILLEHOJ, E. B.; CIEGLER, A. Aflatoxin and related compounds, En: Microbial toxin. vol. VI. Fungal Toxin. Ciegler & Kadis, Academic Press. 1969.
15. DRENER, U. L.; DAVIS, N. D. Aflatoxin formation by Aspergillus flavus. En: Aflatoxin, control and implication. New York, Goldblatt. Academic Press. 1969.
16. F.A.O. Perspective on mycotoxins. Food and Nutrition Paper, Roma. Pags. 44-69.
17. FIELDS, R. W.; KING, T. H. Influence of storage fungi on the deterioration of stored pea seed. *Phytopathology*. 52:236-339.
18. JONES, B. D. Aflatoxin in feedingstuffs its incidence, significance and contrbl. *Tropical products*.
19. JOFFE, A. Z. Relationships between Aspergillus flavus, A. niger and some other fungi in the mycoflora of ground nut kernels. *Plant Soil* 31:57-64.
20. LOPEZ, L. C.; CHRISTENSEN, C. M. Effect of moisture content and temperature on invasion of stored corns by Aspergillus flavus. *Phytopathology* 57:588-590.

21. MIROCHA, C. J.; CHRISTENSEN, C. M. Fungus metabolites toxic to animals. Ann. Rev. Phytopathology vol. 4. 1969.
22. PHILLIPS, D. J.; MACKEY, B.; ELLIS, W. R.; HANSEN, T. Occurrence and interaction of A. flavus other fungi on almonds. Phytopathology 69:829-831.
23. SHANNON, G. M.; Official methods of analysis of Ass. Off. Anal. Chem. XII Edition 1975. Chap. 26 pp. 462-472.
24. RAPER, K. B.; FENNELL, D. I. The genus *Aspergillus*. New York, Krieger R. Publishing Company. 1977.
25. SHROEDER, H. W.; ASHWORTH, Jr. Aflatoxin in spanish peanuts in relation to pod and kernel condition. Phytopathology 55:464-465.
26. SCOTT, P. M.; WALBEEK, E. VAN; HARWIG, J.; FENNELL, D. I. Occurrence of a mycotoxin, Ochratoxin A, in whea and isolation of ochratoxin A and citrinina producing strains off Penicillium viridicatum. Can. J. Plant. Sci. 50:583-585. (sep. 1970).