T-93

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA

EFECTO DE CIERTOS HONGOS SOBRE EL VALOR NUTRITIVO, CALIDAD Y CONSERVACION DEL MAIZ EN GUATEMALA

TESIS
Presentada a la honorable Junta Directiva de la
Facultad de Agronomía de la Universidad de
San Carlos de Guatemala

Por
María Luisa Martínez Herrera
En el acto de Investidura de Ingeniero Agrónomo

INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTRO AMERICA Y PANAMA
GUATEMALA, C. A.
BIBLIOTECA

Guatemala, Febrero, 1968

EFECTO DE CIERTOS HONGOS SOBRE EL VALOR NUTRITIVO CALIDAD Y CONSERVACION DEL MAIZ EN GUATEMALA

TESIS

Presentada a la Junta Directiva de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala para optar el título de Ingeniero Agrónomo

Por

María Luisa Martínez Herrera

Enero, 1968

RECTOR DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

Lic. Edmundo Vázquez Martínez

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA:

Decano	Ing. Agr. Julio René Castañeda
Vocal 1°	Ing. Agr. Mario Martínez G.
Vocal 2°	Ing. Agr. Antonio Sandoval
Vocal 3°	Ing. Agr. Otto Slowing H.
Vocal 4°	Br. Francisco Vallejo
Vocal 5°	Br. Hugo Font
Secretario	Ing. Agr. Fernando Luna

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

Decano	Ing. Agr. Eduardo Coyzueta
Examinador	Ing. Agr. Edgar Ibarra A.
Examinador	Ing. Agr. Héctor Murga G.
Examinador	Ing. Agr. Marco Tulio Urizar
Secretario	Ing. Agr. Leopoldo Sandoval

Honorable Tribunal Examinador:

Someto a Vuestra consideración el siguiente
trabajo de Tesis, Atentemente

María Luisa Martínez Herrera

AGRADEZCO:

A las siguientes personas e instituciones la colaboración que se sirvieron prestarme durante el desarrollo del siguiente trabajo.

Doctores:

Ricardo Bressani,
Eugenio Schieber,
William C. Snyder,
Kenneth B. Raper,
Edgar Braham,
Roberto Gómez,
Luis F. Rosales,
Francisco Vázquez

Ingeniero:

Mario Molina Llardén

Fotógrafo:

Guillermo Lucero

Personal:

Del Departamento de Química Agrícola y de alimentos del Incap, Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.

Departamento de Fitopatología de la Dirección General de Investigación y Extensión Agrícola del Ministerio de Agricultura de Guatemala.

Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

El presente trabajo fue realizado en el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá bajo la asesoría de los Doctores Ricardo Bressani, Eugenio Schieber y Roberto Gómez

CONTENIDO

I. Introducción 1

II. Revisión de Literatura
- A. El almacenamiento de granos 5
- B. El efecto de los hongos de granos almacenados sobre la salud pública y nutrición animal. 8
- C. El valor nutritivo del maíz 12
- D. Los métodos de laboratorio 14

III. Materiales y métodos
- A. La evaluación del daño prevalencia de hongos de maíz 17
- B. La determinación del análisis químico proximal del maíz infectado con hongos 19
- C. La determinación de aflatoxinas 19
- D. El ensayo biológico 19

IV. Resultados
- A. Las muestras 22
- B. Las especies de hongos encontradas en el maíz 23
- C. El contenido de humedad, el pH, los ácidos grasos libres, la germinación y la infección del maíz 24
- D. La extracción de las aflatoxinas en el maíz inoculado con A. flavus 25
- E. El análisis químico proximal del maíz inoculado con hongos 28

F. El ensayo biológico 29

V. Discosión 34

VI Conclusiones

A. Los hongos en el maíz de Guatemala 41

B. El valor nutritivo del maíz infectado con hongos 43

C. Las Toxinas producidas por los hongos. 44

VII. Resumen 46

VIII. Bibliografía 48

IX. Tablas y figuras 74

INTRODUCCION

Una de las preocupaciones más importantes durante la evolución de la humanidad ha sido la obtención de los alimentos. Esta inquietud ha conducido al dominio y control de las plantas y animales por el hombre, dando como resultado la agricultura técnica del presente. A pesar de éstos adelantos, en la actualidad, más que nunca, se siente con mayor intensidad la insuficiencia de alimentos, la cual es en parte, la responsable de la mala nutrición de numerosos países distribuidos en diversas áreas del globo terrestre, pero principalmente en los trópicos

De los diversos alimentos, los cereales constituyen la fuente más importante de energía y proteínas para grandes sectores de la población mundial, incluyendo aquellos que poseen recursos económicos adecuados. De ahí que se hayan realizado grandes esfuerzos por los técnicos en agricultura para producir mayor cantidad de cereales y de otros granos a través de la aplicación de fertilizantes, selección de plantas, control de malezas y otras prácticas de cultivo. Dentro de éstas últimas, el almacenamiento de cereales ha recibido mucha atención en países donde la agricultura ha alcanzado un nivel técnico elevado pero no así en los países de recursos económicos bajos.

El principal alimento de la población humana y animal de Guatemala, es el maíz. Anualmente se pierden considerables cantidades de éste debido a malas prácticas de cultivo, condiciones ambientales adversas durante la cosecha y secamiento y sistemas defectuosos o no existentes de almacenamiento, Se ha estimado que cerca del 10% del maíz de Guatemala se pierde por el ataque de los hongos Fusarium moniliforme y Giberella zeae* existiendo además, pérdidas por ataque de otros hongos, insectos y roedores que no han sido estimadas.

* Comunicación personal del Dr. Eugenio Schieber

Numerosas investigaciones se han efectuado para conocer la influencia que tienen la humedad del grano y del ambiente, aireación, infección, infestación, temperatura del grano y del ambiente, daños mecánicos, sistema de desgrane, impurezas germinación, roedores y factores genéticos sobre el deterioro del grano. Pero además de la importancia que tiene el control de éstos factores en la disminución de las pérdidas físicas de los cereales, ya sea por ataque de roedores, insectos, fermentaciones u otras causas, es de mucha importancia mantener los granos libres de hongos. Estos pueden ocasionar no sólo el deterioro del aspecto físico y químico del grano sino también atentar contra la salud del hombre y de los animales que lo consumen, debido a la pobre utilización de los nutrientes o por la ingestión de las toxinas que producen.

Cada año reviste mayor importancia el estudio sobre la presencia de hongos en alimentos, debido a los efectos infecciosos elérgicos y tóxicos que ocasionan al hombre y animales (113). Así en 1944, finalizadas las hostilidades de la segunda guerra mundial, se reportó que en un distrito ruso el 10% de la población llegó a enfermar por ingerir cereales mohosos, al extremo de haberse producido casos de defunción. Investigando el agente causal, se encontraron especies de los hongos Fusarium y Cladosporium, los cuales producían toxinas muy resistentes y eran los responsables de la toxicosis estudiada (69). Van Der Merwe (141) encontró daños hepáticos en animales que ingerían trigo inoculado con Aspergillus ochraceus, una de las especies comunes enttrigo almacenado, logrando aislar una toxina llamada ochratoxina, responsable de tales lesiones. (Stolob et al (119) observaron que el maíz inoculado con Gibberella zeae producía uterotrofia, a más de otros daños en los aparatos sexuales, de algunos animales domésticos y de laboratorio. En 1960, en Inglaterra, ocurrió la muerte de 100,000 pavos, hecho que obligó al estudio y búsqueda del agente cau-

sal, encontrandose que tales pérdidas se debián a la ingestión de harina de mani contaminada con Aspergillus flavus, productor de aflatoxinas (75). En la actualidad se considera a las aflatoxinas como uno de los agentes carcinógenos más potentes especialmente la B1 pues se necesitan unicamente de 2 a 3 microgramos de ésta última, para producir cáncer en ratas (11). Este hecho ha originado inumerables trabajos en los cuales se han encontrado 4 aflatoxinas denominadas B1, B2, G1 y G2 y a las que se les ha determinado su estructura química y los daños hépáticos que producen en diferentes animales (118). Otra observación interesante es que mamiferos alimentados con dietas conteniendo aflatoxinas, han escretado toxinas en la leche (44) llamadas aflatoxinas M, que tienen diferente comportamiento cromatográfico, en capa fina, comparada con la B1, B2, G1 y G2, pero que producen los mismos efectos carcinógenos en animales que las ingieren. Las aflatoxinas son resistentes al calor, procedimiento usual en la elaboración de alimentos, pero lo cual pueden estar presentes en los alimentos que han sido contaminadas con ellas. No es necesario hacer énfasis en la gran variedad de trabajos que existen sobre los metabolitos dañinos, producidos por los hongos de granos almacenados, ya que las implicaciones que tienen en salud pública, producción animal y economía agrícola son obvias.

En vista de que el maíz en Guatemala es, por su consumo, de gran importancia para la población, que se cosecha bajo condiciones ambientales adversas y que se desconocen los hongos que pueda tener, se consideró de urgente necesidad estudiar los daños y la prevalencia de hongos de maíz, así como también estudiar el valor nutritivo del grano infectado en la alimentación animal y conocer los efectos del proceso de elaboración de tortillas sobre el valor nutritivo del grano infectado experimentalmente con Aspergillus flavus.

Los datos obtenidos, aunque preliminares en naturaleza, demuestran la importancia que se le debe prestar a éste problema y la necesidad urgente que existe de buscar o aplicar métodos prácticos y económicos para la conservación de las cosechas, principalmente en regiones que por su naturaleza ambiental, alta humedad y temperatura, favorecen el desarrollo de estos hongos. El resultado de éstos esfuerzos, además de su importancia económica sería la mayor disponibilidad de maíz sano y nutritivo para la población humana y animal de Guatemala.

REVISION DE LITERATURA

A. EL ALMACENAMIENTO DE GRANOS

Los granos almacenados están sujetos a pérdidas en su valor nutritivo, estructura física, calidad y poder germinativo a causa del ataque por hongos, a procesos biológicos propios del grano y otros agentes de deterioro. Por estudios anteriores se sabe que los hongos encontrados en los granos almacenados se desarrollan después de que el grano ha madurado y ha sido cosechado (136). Los géneros de hongos más frecuentes en grano almacenado son Aspergillus y Penicillium (28, 57). En algunos granos almacenados, especialmente si son de cosechas recientes, pueden encontrarse hongos de campo (72), siendo uno de los más importantes el género Fusarium. Los hongos de campo necesitan agua libre en cantidades altas, alrededor del 31% y dentro del almacén pueden morir por falta de la misma; los hongos de almacén están adaptados a una vida con poca agua libre, del 13-18%, donde la presión osmótica se encuentra a altas tensiones (28). Los factores que más contribuyen al desarrollo de hongos en los granos almacenados, son la humedad, temperatura, tiempo de almacenamiento, suciedad en el almacén (72), y en caso de procesamiento, las áreas contaminadas dentro de la máquina (34). El factor más importante es la humedad del grano ya que incrementos pequeños, 0.2 a 0.5%, aumentan considerablemente la población fungosa en plazos cortos (31). Sin embargo humedades bajas no siempre son seguras para almacenar granos debido a la sucesión microbiana que puede desarrollarse. Así, a una humedad de 14-15% se desarrollo el Aspergillus glaucus, cuya actividad vital aumenta la temperatura y la humedad a 15-16%; este nuevo medio permite el desarrollo de A. candidus y A. ochraceus, los cuales aumentan la temperatura y la humedad a 18% donde se desarrolla A. flavus; el aumento de temperatura puede continuar hasta 55°C en la cual se desarrollan bacterias termofilas que au

mentan la temperatura hasta 72°C produciendo, además materiales de oxidación que pueden provocar la autoignición del material almacenado (29, 37, 137).

La humedad presente en los granos almacenados procede del secado del grano, de la actividad metabólica de los insectos y microorganismos, de la humedad relativa del ambiente, de la temperatura dentro y fuera del lote, de la facilidad de absorción de humedad por factores genéticos de la variedad y por mezcla de granos a diferentes humedades (36, 37, 35). El efecto perjudicial de las altas humedades del grano puede contrarrestarse con temperaturas bajas, granos con 16 a 18% de humedad pueden almacenarse sin peligro a temperaturas de -5°C o menos (64a, 98).

La pérdida de la germinación de las semillas y el obscurecimiento del gérmen se incrementan con el aumento de humedad, tiempo de almacenamiento, temperatura, microflora, daños por insectos y bacterias y por procesos propios de la semilla (79, 81, 97, 99, 107). Corrientemente las mazorcas de maíz contiene granos anormales que no germinan o que germinan defectuosamente (139).

Dentro del almacenaje, los granos sufren una serie de cambios químicos que pueden alterar su calidad y valor nutritivo Los ácidos grasos aumentan por el tiempo de almacenaje, por la microflora, la humedad del grano, el metabolismo de la semilla, la presencia de determinadas especies de hongos, el contenido de grasas, la temperatura y la aireación (17, 18, 52, 58, 67, 78). El anhidrido carbónico, dentro del grano almacenado, procede de la respiración de la semilla, de los microorganismos y de los insectos y puede ser incrementado grandemente por el au-

mento de humedad, temperatura, grado de madurez, daños físicos del grano y por los procesos de germinación (94, 38). La concentración de anhidrido carbónico en el grano almacenado puede inhibir algunos cambios químicos pero permitir el desarrollo de algunas especies de hongos. (18). El fósforo inorgánico aumenta en los granos dañados por hongos, pero una porción de éste aumento es debida a procesos propios del grano (53). El pH del maíz se mantien casi constante debido a la alta capacidad buffer que posee (17), aunque las condiciones de almacenamiento sean adversas. El contenido de quitina en los granos aumenta con la invasión de hongos y no se ha encontrado que las plantas vasculares la sinteticen (55). La disminución de los azúcares reductores en los granos almacenados se debe a la actividad fungosa y a actividades propia de la semilla (52). Por la complejidad de los procesos vitales, resulta difícil evaluar el ataque de los hongos en el grano por las determinaciones químicas. La determinación química que da valores más reales sobre el grado de invasión fungosa es la determinación de quitina y tiene la ventaja de dar la cantidad de micelio presente dentro del grano.

En Guatemala no existe ningún control oficial de calidad de granos, las prácticas de cultivo son malas, no hay suficientes almacenes adecuados de granos y está localizada en el trópico. Por lo cual debe tenerse en mente lo dicho por Hiscocks (62) acerca de que los hongos en los trópicos causan serios problemas debido a que bajan la producción de alimentos, disminuyen la vialidad, afectan la calidad (obscurecen el grano), cambian el sabor, dañan las condiciones físicas del grano, destruyen el valor alimenticio en las proteínas, carbohidratos, grasas y aceites, favorecen la entrada de otros agentes de deterioración y producen toxinas.

B. EFECTO DE LOS HONGOS DE GRANOS ALMACENADOS SOBRE LA SALUD PUBLICA Y LA PRODUCCION ANIMAL

La escasez de granos en ciertas épocas, obliga al consumo de maíz dañado o podrido. En Guatemala el maíz dañado se revuelve con grano sano para elaborar tortillas. Otras veces el maíz dañado se suministra a animales por la creencia tan generalizada de que es inofensivo para animales, lo cual puede ser cierto o no, según el tipo de daño que tenga el grano. Semeniuk, (cita 13 Pomeranz) (103), ha dicho que la digestibilidad del grano dañado y de sus productos depende del olor, sabor, toxinas, agentes alérgicos y organismos patógenos o pseudopatógenos que contenga. Desde el punto de vista de producción animal es interesante saber que muchos de los hongos que se han reportado como causantes de pérdidas económicas y de calidad en granos, son también causantes de muchas de las toxicosis aparecidas en algunos países. Otros hongos de granos almacenados se han estudiado sólo en laboratorio y también han causado toxicosis.

Austwick, en la parte de patogenicidad del libro Genus Aspergillus de Raper (113), indica que los hongos ocasionan tres tipos de problemas infecciosos, alérgicos y tóxicos. Menciona que los dos primeros afectan al hombre pero que sobre el último se tienen pocos datos. Dentro de las enfermedades infecciosas menciona las del aparato respiratorio (aspergilosis, broncomicosis y pneunomicosis), producidas principalmente por los hongos Aspergillus fumigatus, el cual se encuentra presente en algunos granos almacenados. Indica que ésta infección puede producir el 90% de muertes en pollos y el 50% en pavos, afectando además a niños, caballos, ovejas, bovinos y monos. La infección del sistema digestivo produce ficomicosis gástrica e intestinal y producción de úlceras; dentro de los hongos causantes de ésta

infección están Rhizopus, Mucor y Absidia. En el sistema vascular pueden darse casos de endocarditis vascular en el hombre. Infecciones del sistema sexual son bien conocidas, tales como: aborto micótico en bovinos, mastitis y absorción micóticas, la infección de los huevos de gallina, las pérdidas de huevos de patos y gansos y la infección ovárica de las vacas. También pueden encontrarse infecciones del sistema nervioso, mascular, de la piel, de las orejas, ojos e infecciones generalizadas. En las alergias los antígenos formados por el cuerpo provocan hipersensibilidad de la piel y afección de otros sistemas orgánicos.

Los efectos tóxicos producidos por los metabolitos fungosos, se han estudiado desde hace algunos años en Rusia, y en la actualidad muchos otros países están estudiando micotoxicosis. Dentro de las micotoxicosis reportadas están: la aleukia tóxica alimentaria de Rusia (69), la Stachybotryotoxicosis (50), la toxicosis por Phicomyces chartarum (46), la toxicosis del Chaetomiun globosum (41), enfermedad de suinos y bovinos por ingerir maíz mohoso (117), la toxicosis por el Fusarium culmorum (49), la enfermedad producida por ingerir maíz con Gibberella zeae (83) y una serie de trabajos sobre Aflatoxinas.

Dentro de los hongos reportados como productores de toxinas están Aspergillus, Pinicillium, Fusarium, Gibberella, Rhizopus, Mucor, Cladosporium, Alternaria, Phicomyces, Stachybotris, Chaetomiun, Curvularia, Cephalosporium, Epicoccum, Trichoderma, Absidia, Stemphylium, Phoma y Piptocephalis (1, 5, 6, 10, 11, 16, 20, 25a, 41, 44a, 45a, 46, 49, 50, 62, 63, 69, 70, 71, 74, 74a, 75, 83, 84, 87, 87a, 90, 103, 113, 115, 117, 119, 133, 134, 140, 141, 147, 150).

Los síntomas de las toxicosis estudiadas varían según el

animal, la clase de toxina y la dosis ingerida (6, 11, 20, 21, 41, 44a, 46, 49, 50, 70, 74, 74a, 75, 83, 84, 90, 113, 117, 119, 141, 147). Según el agente causal los síntomas son fotosensibilidad, cambios sanguíneos y daños hepáticos producidos por el Phicomyces chartarum (46). Cirrosis hepática producida por el Penicilium islandicum (87). Infiltración de grasa en las células hepáticas y quistes grasos producidos por el Aspergillus ochraceus (141) Daños del sistema nervioso central, hemoglobinuria, enteritis hemorragica y hemorragia subdural producidas por el Chaetomiun globosum (41). Uterotrofía, hipertrofia vulvar, obersiónvvaginal alargamiento del prepucio, mamas prominentes y ovarios ectomizados, en cerdos, dolor de cabeza, vértigos, cansancio, y miedo en el hombre producidos por el Gibberella zeae (119) 83, 70). Pérdida de apetito, baja en la producción lechera, excresión de granos no digeridos y vértigos producidos por el Fusarium culmorum (49). Desgarramiento de la mucosa intestinal, edema severo, líquido en las cavidades corporales y detrás de los ojos producidas por el Fusarium tricinctium (84). Procesos inflamatorios, cambios en constitución sanguínea, infecciones con producción de áreas necróticas, hiperirritabilidad, depresión falta de equilibrio y hemorragias producidas por el Stachybotris (50). Convulsiones tetánicas, temblores, inactividad, falta de equilibrio (147) estancamiento en la división celular en huevos fertilizados de moluscos (133), hemorragias hepáticas, palidez, alargamiento, endurecimiento y contracción crónica del hígado, formación de nódulos hiperplásticos (113), retardamiento en el crecimiento de embriones de pollo (142), vacuolización, acumulación de debris celular producción de células gigantes, inhibición del D. N. A. (74, 74a) rompimiento de los cromosomas humanos, inhibición de la mitosis celular en células de pulmón humano (75) producción de cáncer y producción de tumores, ocasionados por el Aspergillus flavus (74, 74a, 75, 150, 11, 20).

En la actualidad se les está dando cada vez más importancia a las toxinas producidad por el Aspergillus flavus, llamadas aflatoxinas, B1, B2, G1, y G2. Se considera que la aflatoxina B1 esuno de los agentes carcinógenos más potentes que se conocen, ya que de 2 a 3 microgramos producen cáncer en ratas (11, 135, 20). Animales alimentados con dietas conteniendo aflatoxinas pueden excretar toxinas en la leche, llamadas aflatoxinas M y que tienen el mismo efecto carcinógeno que las primeras (44, 44a). Las aflatoxinas también afectan a las plantas ya que producen albinismo en algunas plantitas de semillero, inhiben la germinación (115) e inhiben la formación de lipasa (70) cuya actividad parece estar ligada a la formación de clorofila.

La producción de toxinas por los hongos depende del tipo de sustrato (6, 16, 141, 112), raza del hongo (90, 141), mezclas de diferentes especies de hongos toxicas (69), ambiente (6, 25a, 62, 69, 71, 83), estado del grano (62), precencia de determinados iones (112), edad del hongo y producción de esporas o de micelio, según la parte donde se elaboren las toxinas (6).

En algunas toxinas se conoce su estructura química (69, 25, 27, 83, 106, 113, 116, 134, 141) pero aún quedan muchas por estudiar. Algunas de las dosis letales de micotoxinas para matar el 50% de los animales, (DL_{50}), son para ochratoxina 25 microgramos (141), aflatoxina B1, 18.2 mgrs., aflatoxina B2, 84.8 mgrs. para G1 39.2 mgrs. y para G2, 172.5 mgrs.

En alimentos se han encontrado más de 600 hongos pertenecientes a 20 géneros (41), por lo que se corre el riesgo de encontrar muchos alimentos con toxinas fungosas (103, 71). La cocción que se utiliza para preparar los alimentos, las temperaturas bajasy el tiempo de almacenamiento no destruyen las toxinas (69, 71, 103). Es necesario establecer estándares de alimentos y exi-

gir control microbiólógico oficial (5) para evitar los problemas que puedan dar las micotoxinas.

C. EL VALOR NUTRITIVO DEL MAIZ

Se ha considerado que el maíz es un alimento incompleto para humanos y animales. El maíz contiene aproximadamente 10% de proteína. Más o menos la mitad de la proteína del maíz se encuentra en forma de Zeina, que es una proteina imperfecta, desprovista de lisina y deficiente en triptofano. Se ha encontrado que la proteína del germen de maíz tiene un valor biológico igual a la proteína de la carne y que está constituida por todos los aminoácidos esenciales, los cuales tienden a compensar la deficiencia de proteína por presencia de la zeina. (96). El contenido de proteína del maíz puede perderse por el método de preparación del maíz (96). Bressani, Paz y Scrimshaw reportan que el 10% de nitrógeno se pierde en la elaboración de tortillas. En la cita 113 del trabajo de la Food and Agricultural Organization (96), se indica que el proceso de elaboración de tortillas se pierde el 30% de triptofano, 26% de histidina y 16% de arginina. Bressani (19a), aludiendo a otros trabajos, citas 4, 5 y 6, indica que las tortillas son deficientes en triptofano y lisina y que el valor biológico de las mismas disminuye, aunque otros autores, cita 7 y 8 de Bressani encontraron que las ratas alimentadas con tortilla aumentaban más rapidamente de peso.

En cuanto a vitaminas, el maíz puede suministrar una cantidad suficiente para los requerimientos humanos, de tiamina de la que puede perderse del 60 al 65% en la elaboración de tortillas (96, 19a). Los carotenos del maíz son más utilizables desde el punto de vista nutritivo comparado con otros productos vegetales (96), pero se pierden por tiempo de almacenamiento, temperatura (109) y en las tortillas se pierden el 21% (19a) a el 40%

(96). El contenido de riboflabina del maíz es más alto que en el trigo o arroz (96) y en la tortilla se pierde del 32 al 52% (19a). En el maíz también se encuentra vitamina E y el contenido de vitamina D es muy bajo (96). El contenido de niacina del maíz es menor que en el trigo y arroz (96), en las tortillas se pierde el 31 a 32%. No toda la niacina del maíz se encuentra en estado libre ya que puede estar formando cofermentos, nicotinamina o como elemento precursor unido a alguna substancia parecida a las proteínas, lo que impide su utilización por los animales. Estas substancias pueden desprender la niacina cuando se tratan con un ácido fuerte o con un álcali débil, de ahí que existe la probalidad que en la elaboración de tortillas se aumenta el contenido de niacina asimilable, pero éste no se ha podido comprobar en ensayos biológicos (96).

Al comparar los desechos de trigo con la leche deshidratada se encontró que el contenido de aminoácidos de los primeros era de doble que el de la leche. El uso de éstos desechos es ahora limitado debido al alto contenido de fibra cruda y al contenido de fitina (19). Es probable que los hongos puedan servir para utilizar éstos desechos ya que transforman los productos agrícolas en otros alimentos (29, 45). Se ha encontrado que en el maíz dañado los aminoácidos se han triplicado (96, cita 27) y que el extracto puridicado de Gibberella zeae es efectivo en la relación alimento-crecimiento de ovejas (119, 22) En Japón se consumen muchos cereales fermentados, pero en la actualidad se está considerando el contenido de toxinas de los mismos (71). Sin embargo, debe haber procesos químicos que éliminen las substancias tóxicas (124) y que darían la ventaja de poder usar los hongos sin ningún peligro. En los países donde consumen el maíz dañado se han encontrado casos de hepatitis, con fijación de hierro y degeneración del hígado. En biopsis de personas con pelagra, que tenían alimentación de maíz, se encontraron cambios parológicos en los célul-s

hepáticas que tendían a cirrosis y acumulación de hierro (96).

El valor alimenticio del maíz puede mejorarse usando mejores prácticas de cultivo (96), variedades mejoradas o quizá usando microorganismos capaces de producir cambios deseables en su compasisión y que no sean un peligro para la salud pública.

D. LOS METODOS DE LABORATORIO

El Germen Dañado

El hervir las semillas de maíz con una solución de hipoclorito de socio hasta que los granos se hayan blanqueado, permite un mejor examen visual del germen dañado, ya que éste se obscurece (39). Este método es útil, pero únicamente permite determinar los gérmenes dañados y no el porcentaje de infección.

Los ácidos grasos libres

La determinación de ácidos grasos libres se ha recomendado para evaluar el daño ocasionado por los hongos dentro de la semilla (8), pero presenta el inconveniente que su aumento pueda ser debido al aumento de humedad. Al usar la determinación de ácidos grasos libres como medida de infección por hongos, las muestras deberán tener contenidos de humedad de 10% o menos (8).

La Determinación de Aflatoxinas

Para evaluar las concentraciones de aflatoxinas en las muestras, pueden usar determinaciones biológicas y químicas (118) Dentro de los primeros se ha recomendado medir la hiperplasia de los conductos biliares en patitos, pero ésta determinación es menos exacta que las determinaciones químicas (47, 25).

Dentro de las determinaciones químicas se han desarrollado una gran cantidad de métodos y Pons et al (104) indican que al extraer las aflatoxinas con acetona acuosa pueden detectarse cantidades hasta de 0.3 partes por billón de aflatoxinas B1. Con una solución acuosa de metanol la determinación tiene la sensibilidad de 0.02 partes por billón (26). Para hacer la placa de cromatografía se han recomendado diferentes materiales casi todos las gel de sílice dan valores semejantes, pero el óxido de aluminio da resultados más bajos (135). Las diferentes aflatoxinas tienen diferentes fluorescencias según el material empleado en la placa cromatográfica, por lo que es recomendable usar diferente gel de sílice según la aflatoxina que se va a determinar (105). La determinación de aflatoxinas presenta muchos problemas, pues al extraerlas también se extraen pigmentos, los cuales pueden rayar la placa, absorven luz ultravioleta (impidiendo a veces detectar cantidades tan altas como de 200 mgrs de aflatoxina B1) y cristalizan junto a las aflatoxinas (149, 22). Por diálisis el extracto contiene menos pigmentos (68). Las aflatoxinas son muy sensibles a la luz por lo que deben minizarse el tiempo de exponerse mucho tiempo a la luz ultravioleta (3).

Otro problema es el estandar, que es una solución de aflatoxinas en cloroformo, porque se evapora rápidamente y su uso es corto. Al concentrarse o descomponerse por la luz puede dar valores falsos. Es necesario buscar un sol entre más estable (101).

El método que emplea un disintómetro equipado para fluorescencia, da errores menores, de 2 a 4%, mientras que el método de evaluación visual da errores más altos, hasta de 20%. Además que el primer método usa un solvente que da mejor separa

ración de las cuatro aflatoxinas (105).

También debe considerarse que algunas muestras dan fluorescencia semejante a la de las aflatoxinas. Esta fluorescencia procede de un metabolismo propio de las semillas, especialmente cuando están húmedas. En la actualidad no se sabe que efecto tiene éste compuesto en animales pero para la determinación de aflatoxinas puede dar valores falsos (123).

METODOS Y MATERIALES

A. LA EVALUACION DEL DAÑO Y PREVALENCIA DE HONGOS EN MAIZ

El Origen de las muestras

El estudio se realizó con 62 muestras de maíz las cuales fueron recolectadas en almacenes domésticos, mercados y fincas. Las áreas muestradas correspondieron a los departamentos de Escuintla, Chimaltenango, Sacatepéquez y Suchitepéquez. La recolección del material se llevó a cabo de Julio a Octubre de 1965. A cada muestra, al ser recolectada se le determinó las condiciones de almacenamiento y las características físicas del grano, asimismo se obtuvo una descripción de la localidad de procedencia de la muestra. Algunas muestras fueron de cosechas recientes, mientras que en otras la época de cosecha fué imposible determinar, así como el tiempo de almacenamiento y su procedencia,.

La Preparación de las Muestras

Las muestras que estaban en mazorcas fueron desgranadas a mano. A todas las muestras se les determinó la pureza, infección e infestación (95). El material fué almacenado en bolsas plásticas a una temperatura de 4-7°C centígrados. Posteriormente se les determinó humedad, (129), ácidos grasos libres (128) y el pH (potenciometricamente).

La Determinación del número y clase de microflora presente

Los datos se obtuvieron siguiendo la técnica descrita

por Christensen (81). Los granos se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al uno por ciento durante un minuto, lávándolos después con agua esterilizada. Cien de éstos granos desinfectados se sembraron en un medio de malta-agar-sal (2%-2%-10%). El recuento fungoso se hizo a los ocho días de sembrados los granos. Cuando fué posible, la identificación se hizo inmediatamente, pero en la mayoría de los casos fué necesario guardar el hongo para una identificación posterior. La identificación de las especies de Aspergillus fué realizada por el Dr. Kenneth B. Raper de la Universidad de Wisconsin* y las especies de Fusarium por el Dr. William C. Snyder de la Universidad de Berkeley, California*. Los resultados dieron el porcentaje de las distintas especies de hongos presentes y el porcentaje de los granos que ya habían sido invadidos por hongos.

La Determinación del germen dañado e infectado

Se siguió la técnica de Christensen (81). Cincuenta granos de maíz previamente desinfectado se partieron y se sembraron en malta-agar-sal. La observación de los granos inmediatamente después de partidos dió el porcentaje de gérmenes dañados. Se tomó como germen dañado todo el que estaba manchado u boscurecido. A los ocho días se hizo el recuento de los gérmenes que estaban invadidos por hongos, lo cual dió el porcentajesde gérmenes infectados. Las observaciones se hicieron con microscopio estereoscópico.

La Determinación del porcentaje de germinación

* La autora agradece a ambos cientificos, así oomo al Dr. Eugenio Schieber, la valiosa ayuda en la identificación de las especies de hongos encontrados.

Se siguió la técnica de toallas de papel (95). El recuento se efectuó a los cincosy ocho días después de haber colocado las muestras.

B. LA DETERMINACION DEL ANALISIS QUIMICO PROXIMAL DEL MAIZ INFECTADO CON HONGOS

En frascos de 16 onzas se pusieron 300 gramos de maíz amarillo, molido y se les agregó 50% de agua destilada. Se esterilizó dos veces a intérvalo de 48 horas, usando 16 libras de presión y 125°C, durante 20 y 15 minutos respectivamente. El maíz fué inoculado con una solución de esporas de Aspergillus versicolor A. flavus, Fusarium moniliforme, F. roseum y Penicillium sp. La incubación del material se hizo a temperatura ambiente. A los seis meses de desarrollo de los hongos se les determinó humedad (129), grasa (127), cenizas (125), nitrógeno y proteína (130).

C. LA DETERMINACION DE AFLATOXINAS

Para saber si la especie de Aspergillus flavus encontrada en muestras de maíz era productora de aflatoxinas, se inoculó maíz húmedo y esterilizado con una solución de esporas de A. flavus. Para el análisis de las aflatoxinas se siguió el método descrito por Campbell (23) para mantequilla de maní. La producción de aflatoxinas se determinó a las dos semanas de inoculado el hongo.

D. EL ENSAYO BIOLOGICO

La preparación del material

En frascos de 16 onzas se colocaron 300 granos de maíz amarillo entero, agregándole un exceso de agua destilada y esterilizándolo dos veces. La esterilización del maíz se hizo durante

20 y 15 minutos, a 125°C y 16 libras de presión con un intervalo de 48 horas. Después de esterilizado se decantó el exceso de agua y se inoculó con una solución de esporas de Aspergillus flavus. La incubación se hizo a temperatura ambiente. A los 30 días se sacó el material y se secó en un horno a una temperatura de aproximadamente 50°C. El maíz usado como control se preparó en la misma forma que el anterior exceptuándose únicamente la inoculación.

La elaboración de las tortillas

Se siguió el método descrito por Bressani (29a). En el maíz que había sido inoculado con A. flavus la cantidad de cal* y el tiempo de cocción fueron menores. El tiempo de cocción dependió del tiempo que tardó el pericarpio en desprenderse.

La preparación de las dietas

Se prepararon cuatro dietas que aparecen en cuado No. 1

Los animales usados

Se usaron seis grupos de ratas Wistar, de la colonia del INCAP. Cada grupo estaba formado por cuatro hembras y cuatro machos. En los cuatro primeros grupos se usaron ratas de 22 días de edad, suministrándoles las dietas 1, 2, 3 y 4 respectivamente. Los otros dos grupos eran ratas de aproximadamente 66 días de edad, las cuales fueron alimentadas con las dietas 1 y 2 Todos los grupos estuvieron bajo éstas dietas durante seis semanas A los grupos 1, 2, 3 y 4 se les mantuvo posteriormente con una dieta de caseina, cuya composición se indica en cuadro No. 2,

* óxido de calcio

durante cuatro semanas más, con el propósito de examinar los hígados por transtornos patológicos, los cuales tardan en aparecer .

El Análisis de las dietas

Al maíz básico de las dietas se le determinó humedad (129), grasa (126), fibra cruda (127), cenizas (125), nitrógeno y proteína (130), y aflatoxinas (23). A las dietas se les hicieron las mismas determinaciones con la excepción de aflatoxinas.

Los daños patológicos de los animales

El estudio patológico de los animales estuvo a cargo de los Doctores Luis Felipe Rosales y Francisco Vásquez de la Facul dad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

RESULTADOS

A. LAS MUESTRAS

Los lugares muestreados corresponden a los departamentos de Escuintla, Chimaltenango, Suchitepéquez, Sacatepéquez y están situados a alturas de 31 hasta 2130 metros sobre el nivel del mar, teniendo los siguientes datos anuales: precipitación pluvial de 843 a 4000 milímetros, temperatura mínima desde 10° C y máxima hasta de 38°C y una humedad relativa de 80%. Bajo estas condiciones ambientales, especialmente de alta humedad relativa y temperaturas adecuada para la incubación de microorganismos, la invasión fungosa puede realizarse en tiempos relativamente cortos y el grano no puede mantenerse a humedades bajas ya que una humedad relativa de 80% mantiene una humedad mayor del 13% en el grano.

De las muestras analizadas el 77% se encontraba en mazorca y el 23% en forma de grano suelto. El 90% de las muestras estaban puras y el 10% restante estaba contaminado con tierra. Sólo el 37% de las muestras mostró infección por exámen visual, y el 32% mostró infestación. En la mayoría de los casos no fue posible determinar la variedad de maíz debido a la falta de control que existe desde el momento de la siembra y en el comercio del mismo.

Las muestras habián sido almacenadas en sacos, a granel, en mazorcas amontonadas y en mazorcas con tusa colgadas de vigas. A excepción de cuatro muestras todas habian sido almacenadas sin ambiente controlado y las bodegas eran cuartos rústicos.

De las muestras estudiadas el 62% procedían de cosechas

recientes, el 16% de almacenamiento mayor de seis meses y el 16% era desconocido. El 6% restante corresponde a almacenamiento mayor de un año.

Algunas muestras mostraron un grado avanzado de infección a simple vista según se puede cpreciar en las figuras 1, 2 y 3

B. LAS ESPECIES DE HONGOS ENCONTRADOS EN EL MAIZ

Los géneros de hongo más frecuentemente encontrados fueron: Penicillium 93%, Fusarium 95% y Aspergillus 77%. Las especies de hongos encontrados se muestran en el cuadro No. 3, donde aparece la frecuencia y el % de granos infectados en base al número de muestras en que aparecieron y en base al número total de muestras estudiadas.

Se encontraron algunos hongos de campo como Fusarium, Cladosporium, Nigróspora, Botryodiplodia y otros, especialmente en las muestras que prodedían de cosechas recientes. Los géneros Pinicillium y Aspergillus fueron abundantes en las muestras que tenían más tiempo de almacenamiento y en las cuales el contenido de humedad era alto.

Los hongos que con mayor frecuencia aparecieron en las muestras fueron: Penicillium spp. 93%, Fusarium moniliforme 91% Aspergillus versicolor 57%, A. wentii 32%, A. ruber 27%, Cladosporium 27%, A. echinulatus 25% y A. flavus 25%. Los hongos que invadieron más granos, en base al número total de muestras fueron Penicillium spp. 44%, Fusarium moniliforme 31%, A. echinulatus 10% y A. versicolor 7%.

El Penicillium spp. y el Fusarium moniliforme desarrolla

ron a humedades mayores de 13%. El A. flavus, A. wentii, A. chevaliere, A. echinulatus, A. ruber y Clodosporium desarrollaron a humedades mayores de 16%. El Penicillium se desarrolló rápidamente cuando el grano se guardó a 4-6°C. en muestras con alto contenido de humedad.

En la figura No. 3 puede verse el daño causado por el Fusarium moniliforme en mazorcas con alto contenido de humedad y cuyo daño procede del campo. En las figuras 4 y 5 se muestran los hongos que aparecieron en granos que aparentemente no tenían invasión fungosa, pero el ponerlos en un medio adecuado desarrollaron rapidamente. En las figuras 6, 7, 8, 9 y 10 aparecen, en el orden respectivo al aspecto de los granos invadidos por A. niger, A. chevalieri, A. flavus, A. ruber y A. echinulatus.

Al hacer el recuento de granos infectados se encontró una gran diferencia entre estos y los germenes dañados e ifectados como detalla en el cuadro No. 4. La infección del germen no coincide con el germen dañado debido a que el obscurecimiento del embrión por los hongos ocurre sólo cuando la invasión fungosa es alta. La infección del germen es más alta que la infección del grano entero debido a que en la primera del hongo encuentra un mejor medio para su desarrollo. En las figuras No. 11 y 12 se muestra el gran desarrollo del F. moniliforme y A. wentii, respectivamente, cuando el germen está expuesto al ataque de hongos. El inicio de esta infección fue en el embrión.

C. EL CONTENIDO DE HUMEDAD, EL pH, LOS ACIDOS GRASOS LIBRES, LA GERMINACION Y LA INFECCION EN EL MAIZ

En el cuadro No. 5 se muestran los promedios de los áci

dos grasos libres, la infección y la germinación encontrados a diferentes rangos de humedad. El 94% de las muestras tenían humedades mayores de 13%. El pH no mostró cambios considerables y la mayoria de los valores estuvo comprendido entre 6.4 y 6.6. Los ácidos grasos libres mostraron gran variación y sus valores estuvieron comprendidos entre 24 y 500 microgramos por ciento, en base seca. La germinación bajó en algunos casos hasta cero y la infección llegó hasta 100%.

Con el contenido de humedad el grano sufrió cambios físicos y químicos que contribuyeron en el aumento de la infección y de ácidos grasos libres. Las relaciones entre estos parámetros se describen en las Gráficas 14 y 15.

El aumento de la infección en los granos aumentó el contenido de ácidos grasos libres y disminuyó la germinación, como se indica en el Cuadro No. 6 y en las Gráficas Nos. 16 y 17.

En el Cuadro No. 7 y la Gráfica No. 18 se muestran las relaciones entre la germinación y los porcentajes de germen dañado e infectado, así como la relación con el contenido de ácidos grasos libres. Los datos muestran que a mayor germinación menor porcentaje de germen dañado e infectado y menor contenido de infección algunos granos derminaron pero lo hicieron en forma anormal y llegaron a morir en plazos cortos.

D. LA ESTRACCION DE LAS AFLATOXINAS EN MAIZ INOCULADO CON ASPERGILLUS FLAVUS

El método descrito por Campbell (23) para determinar aflatoxinas en mantequilla de maní, dió algunos problemas cuando se aplicó al maíz. Los problemas encontrados fueron:

1. En la fase de metanol-agua, al inicio de la extracción, se formó una capa de material poco pesado que impedía la obtención de una solución limpia para la elaboración de la columna. En el maíz poco infectado no se forma ba esta capa, pero muchas partículas, probablemente glucosa, quedaban disueltas en el metanol-agua. Este problema se eliminó, parcialmente, filtrando la solución con papel filtro Whatman N° 1.

2. Al usar celita 665 y 545, se encontró que la última daba una velocidad de elución mayor a la primera. Sin embargo, la velocidad de elución de la celita 545 era mayor de una hora, llegando a casi dos horas, cuando se dejaba eluir por gravedad. Al aplicar presión con una perilla de aire con válvula, el tiempo de elución bajó a menos de una hora. La velocidad de elución, al usar la perilla, no disminuyó la eficiencia de extracción de las aflatoxinas. Debido a la descomposición de las aflatoxinas por exposición a la luz y al aire se usó elución con aplicación de presión.

3. El extracto final, mostró coloración amarillenta o pardo amarillenta. Al correr el extracto en placas cromatográficas de capa fina, figura 19, se encontraron pigmentos que rayaban la placa y que interferían con las aflatoxinas. Algunos de estos pigmentos son solubles en agua y otros en cloroformo. Los pigmentos tampoco permitían una buena aplicación de la muestra en la placa cromatográfica, pues daban manchas irregulares que se difundían en áreas relativamente grandes, cuando se aplicaban cantidades mayores de 5 microgramos de muestra. Otras veces el extracto de la muestra tenía un aspecto viscoso.

4. Al usar diferentes concentraciones de muestra para poder evaluar una cantidad óptima a aplicar en la determinación de aflatoxinas, se encontró que a concentraciones bajas era más importante la fluorescencia de la mancha para hacer un análisis visual, mientras que a concentraciones mayores era más importante el tamaño de la muestra unido a la fluorescencia.

5. Al no encontrar una buena separación de las aflatoxinas en las placas de gel de sílice G-HR, se probaron diferentes materiales para hacer la placa cromatográfica. El material usado fue: gel de sílice G, H, G-HR, ácido silícico y celulosa. Los mejores resultados se obtuvieron al usar las diferentes geles de sílice. La gel de sílice H dió menor separación de las aflatoxinas comparada con la gel de sílice G y G-HR. El Rf. de las aflatoxinas varió de placa a placa y de material a material. Cuando las placas se activaban por calentamiento se obtenía mejor separación de las manchas.

6. Se probaron diferentes solventes para correr la placa cromatográfica y se encontró que no había diferencia considerable entre usar metanol al 5 o al 7% en cloroformo. En el solvente de benceno-metanol-agua se en contró un desplazamiento menor de las aflatoxinas. El solvente Acetona-cloroformo (15/85. v/v) se obtuvieron manchas con mejor separación y más claras.

7. El estándar fue uno de los mayores problemas encontrados debido a que nunca se pudieron separar las cuatro aflatoxinas. Unicamente se obtuvieron dos manchas, una azul y otra verde. Probablemente los estándares u

tilizados habían sufrido alguna desconposición por el tiempo de almacenamiento o bien algunos otros factores están interfiriendo. Estos factores no se pudieron encontrar.

8. Para determinar la aflatoxina se probó hacer electroforesis con el extracto y el estándar. Se usó una solución buffer de piridina al 1% y ácido acético al 4%. Al observar las bandas bajo la luz ultravioleta se encontró, en la muestra de maíz inoculado con Aspergillus flavus, una mancha azul bien definida cerca del punto de aplicación y dos manchas definidas pero con muy poca separación, del estándar. Las manchas del estandard eran una azul que coincidía con la azul de la muestra, y otra verde. Probablemente se logre una mejor separación de las aflatoxinas, al usar electroforesis, empleando otra solución buffer o dejando mayor tiempo de exposición a la corriente eléctrica.

El análisis de la producción de aflatoxina por el Aspergillus flavus indicó que en el maíz sólo se producía una aflatoxina, probablemente la B1. Sin embargo, la extracción de las aflatoxinas en maíz presenta varios problemas que deberán ser eliminados para poder hacer un análisis cuantitativo exacto.

E. EL ANALISIS QUIMICO PROXIMAL DEL MAIZ INOCULADO CON HONGOS

Los hongos pueden transformar los diferentes compuestos químicos en otras substancias. En la actualidad se sabe muy poco del efecto que tienen sobre los sustratos en que crecen. En este trabajo se hicieron estudios para conocer algunos de los cambios químicos producidos por los hongos en el maíz. En el cuadro

N° 8 pueden verse los cambios en el contenido de grasa, fibra cruda, proteínas y cenizas que produjeron los hongos Fusarium roseum, Aspergillus flavus, A. versicolor, Penicillium sp y F. moniliforme. Los cinco hongos estudiados aumentaron el contenido de las substancias químicas antes mencionadas en el maíz. El dato más interesante es el contenido de proteína que fue triplicado o por lo menos duplicado. El contenido de fibra cruda aumentó de 4 a 8 veces de su valor original. A pesar de que los valores están dados en base húmeda, la transformación a base seca hace subsistir la producción de cambios químicos.

F. EL ENSAYO BIOLOGICO

Antes de preparar las dietas se consideró la posibilidad de eliminar las esporas vivas del Aspergillus flavus. El hongo vivo podía ejercer una acción infecciosa y no tóxica en las ratas bajo experimento. Con este objeto se hicieron ensayos para saber que efecto tenía el metanol caliente sobre los hongos, y se encontró que éste mataba los hongos pero también reducía el contenido de aflatoxinas. Es probable que el empleo del metanol y el secamiento del maíz, hayan expuesto las aflatoxinas a una oxidación más rápida, a una fotodescomposición, o quizás el metanol haya extraído algunos pigmentos que impidieran la evaluación exacta del contenido de aflatoxina en la muestra. Por el desconocimiento de los efectos secundarios que pudiera tener el empleo del metanol caliente, se optó por usar el hongo vivo.

1. El crecimiento de las ratas

En el cuadro N° 9 se muestra el crecimiento en los diferentes grupos de ratas, el alimento que ingirieron, el índice de utilización de alimentos y la mortalidad. En las figuras 20, 21, 22 y 23 se muestra el aumento de peso y

la cantidad de alimento ingerido por los diferentes grupos.

El crecimiento de las ratas jóvenes alimentadas con maíz esterilizado fue normal, ingirieron bien el alimento y no se registraron casos de mortalidad. Las ratas jóvenes alimentadas con maíz inoculado con A. flavus, disminuyeron de peso, ingirieron poco alimento y siete de ocho ratas murieron de los 4 a 10 días de iniciado el experimento.

El crecimiento de las ratas jóvenes alimentadas con tortillas de maíz esterilizado fue normal, ingirieron el alimento con agrado y no se registraron casos de mortalidad. El crecimiento de estas ratas fue semejante al grupo alimentado con maíz esterilizado y el índice de utilización de alimento fue igual. Las ratas jóvenes alimentadas con tortillas a base de maíz inoculado con A. flavus crecieron normalmente, aunque su aumento de peso fue menor que el control de tortillas. También ingirieron menos alimento que el control. En este grupo tampoco se registraron casos de mortalidad.

Las ratas adultas con dieta a base de maíz esterilizado, por su edad, crecieron menos que las ratas jóvenes con igual tratamiento. No hubo problemas en la ingestión de la dieta y su índice de utilización de alimento fue ligeramente mayor que el grupo de ratas jóvenes con igual dieta no se registraron casos de mortalidad. Las ratas adultas con maíz inoculado con A. flavus perdieron peso, ingirieron poco alimento 6 de 8 murieron en períodos de 14 a 32 de iniciado el experimento se encontró resistencia de las hembras a la aflatoxina. En los grupos de ratas jóvenes, los machos murieron a los 3 y 4 días mien

tras que las hembras murieron de los 4 a los 10 días. En las ratas adultas los machos murieron a los 14 y 15 días mientras que las hembras murieron a los 30 y 32 días. Las ratas sobrevivientes de ambos grupos eran hembras.

2. Los síntomas Patológicos.

Los síntomas pre mortem fueron nerviosidad, incordinación en los movimientos, falta de equilibrio, decaimiento, heces y orina obscuras y pelo hirsuto. El examen post mortem mostró mucosas externas ligeramente anémicas, sangre pálida y fluida, riñones ligeramente aumentados de volumen y de color rojo castaño, la vejiga urinaria llena de orina de color obscuro(en examen delaboratorio se detectó presencia de hemoglobina), el estómago en la región cardíaca presentó unos dóculos pequeños de 2 mm de diámetro, con un foco pequeño simulando ser úlceras, el estómago en la región gladular mostraba grandes hemorragias de tipo sufusión, los intestinos se encontraban llenos de heces de color obscuro(en examen de laboratorio se detectó presencia de sangre), el hígado estaba ligeramente aumentado de volumen y mostraba áreas con puntuaciones rojizas. El sistema circulatorio y demás órganos estaban normales. El examen microscópico mostró en el hígado áreas pequeñas, distribuidas difusamente en el parénquima heático, de degeneración en las cuales hay desaparición de la masa nuclear, hipercromasia y algunas veces cariorexis. El citoplasma de las células afectadas es usualmente granular y acidófilo y algunas de ellas contiene vacuolas. Hay congestión de la vena centro lobulillar y un poco de desorganización de las trabiculas hépaticas aparentemente es de localización periacinar y más frecuentemente en la superficie del órgano. En algunos cortes hay necrosis con formación de fibrina en la su-

perficie, sin embargo, hay señales de organización debida a que hay invasión de vasos capilares sanguíneos. El riñón tenía congestión severa de todos los glómérulos renales, con extravasación de los glomérulos rojos. Las células tubulares mostraron aumento de volumen, citoplasma granular y un poco acidófilo. Algunas células próximas a los glomerulos mostraron degeneración nuclear. El Estómago mostraba en general destrucción de la mucosa gástrica, en algunos casos la necrosis era superficial, en otros había una necrosis completa de la mucosa, incluso afectando la submucosa, pero dichas lesiones era focales y estaban acompañadas de hemorragia intensa y acúmulos bacterianos o bien formación de fibrina. También se observaron hemorragias en diversas áreas de la mucosa y submucosa. El corazón, pulmón y cerebro aparentemente estaban normales.

Los grupos de ratas jóvenes N° 1, 2, 3 y 4 que habían estado en experimento durante 6 semanas y que luego se habían puesto en dieta suplementaria durante cuatro semanas más, se sacrificaron al final del experimento. Las ratas que habían estado en dietas a base de maíz esterilizado y tortillas de maíz esterilizado se encontraron normales al hacerles necropsias. Las ratas a base de tortillas de maíz incoulado con A. flavus se encontraron normales a excepción de una rata que mostró degeneración hepática en el lóbulo accesorio y que se caracterizaba por tener una coloración más pálida y bien remarcable del parénquima hepático normal restante. La rata sobreviviente de la dieta con maíz inoculado con A. flavus mostró en el estomago enrojecimiento de la mucosa con pequeña deposición de fibrina en varias áreas de la zona fúndica. En el hígado, de-

generación de lóbulo accesorio, manifestando un área más pálida y seca que el tejido normal. En el estómago la mucosa estaba pálida, engrosada y endurecida, aparentemente habia formación de conectivo, dandole una apariencia corrugada, aunque leve, a la mucosa. Los resultados de los cortes histopatológicos no se reportan en este trabajo.

3. El análisis químico proximal de las dietas.

En el cuadro N° 10 se muestran los valores encontrados en las dietas y en el material que sirvió para elaborarlas. Pueden verse que el material a base de maíz inoculado con A. Flavus y las tortillas de este mismo maíz tienen valores más altos en el contenido de grasa, fibra cruda, proteina y cenizas. El contenido de aflatoxinas del material para las dietas no se reportan en este trabajo.

DISCUSION

Las condiciones geográficas de Guatemala permiten variedades climáticas que ocasionan diferentes prácticas en los cultivos. Así, en las tierras bajas con clima tropical húmedo, se obtienen dos o tres cosechas anuales, mientras que en las tierras altas, con clima montano húmedo, solo se obtiene una cosecha. En las tierras bajas el maíz se guarda generalmente en forma de mazorca con tusa y en las tierras altas en forma de granosuelto. En ambas regiones el almacenamiento del grano se hace en forma rústica, especialmente en las fincas pequeñas y casas rurales. La precipitación pluvial, la alta humedad relativa y la temperatura permiten un deterioro rápido del grano, ya que este absorbe humedad del ambiente, como lo han demostrado algunos autores (17, 28, 32, 36, 80, 99). De los resultados obtenidos, el 37% de las muestras estaban infectadas y el 32% infestadas, como la mayoría de las muestras procedían de cosechas recientes es probable que estos datos lleguen a cifras muy alarmantes cuando el tiempo de almacenamiento sea más grande. Las muestras infectadas, en muchos casos, mostraron una apariencia muy mala, figuras 1, 2 y 3 encontrándose granos completamente obscurecidos, quebradizos y a veces germinados. Las muestras más dañadas procedían de grano suelto, lo que nos indica que el grano suelto sufre un deterioro más rápido comparado con el grano en mazorca. En Guatemala se acostumbra doblar la mata de maíz para conseguir un mejor secado del mismo y este procedimiento evita en parte, el desarrollo de hongos y ayuda al escurrimiento del agua.

Los resultados indicaron que el principal agente de deterioro del grano es el contenido de humedad. La mayoría de las muestras tenían humedades mayores de 14% en base húmeda, la cual es peligrosa para almacenar granos.

El contenido de humedad es uno de los factores más im-

portantes en el deterioro del grano pues lo suaviza, acelera los procesos metabólicos y proporciona un medio favorable para la entrada de microorganismos.

El germen puede obscurecerse por invasión fungosa y por procesos metabólicos propios del grano. Además, granos aparentemente sanos, al colocarlos en un medio adecuado, desarrollan hongos. Por estas razones el número de gérmenes dañados no siempre indica la infección del grano.

La disminución en la germinación idica invasión fungosa y condiciones adversas para su desarrollo. El alto contenido de humedad puede iniciar la germinación pero el embrión, al no tener condiciones favorables para su desarrollo, muere. Los insectos y roedores pueden dañar físicamente el embrión, impidiendo su germinación.

Los ácidos grasos libres pueden aumentar con el aumento de infección, germinación y humedad del grano. Es decir que los factores del deterioro del grano actúan en forma conjunta y no pueden estudiarse independientemente.

Con el incremento de humedad, aumentaron los ácidos grasos libres y la infección mientras que la germinación disminuyó, como ya había sido demostrado por otros autores (13, 28, 35 36, 43, 67, 78, 79, 81, 99, 137, 144). No podría decirse que la humedad influyó únicamente en la infección y que ésta fué la responsable del aumento de ácidos grasos y disminución en la germinación, porque el grano, como todo ser vivo, tiene actividad metabólica la que aumenta con el contenido de agua. De ahí que la germinación esté ligada a la humedad y a la infección (79, 97, 107, 64), como se muestra en los cuadros N° 5 y 6. Los ácidos grasos libres están relacionados con el contenido de hume-

dad, infección y germinación, como lo han demostrado otros autores (67, 35, 57). El aumento de infección y ácidos grasos libres y la disminución en la germinación están alterando la calidad y valor nutritivo del grano en Guatemala.

El análisis microbiológico de las muestras indica el alto grado de infección del maíz. Aunque muchas muestras estaban aparentemente sanas (63%), el estudio de la microflora dió una infección de 98%. Los géneros de hongos más frecuentemente encontrados fueron: Fusarium, Pinicillium y Aspergillus. El Fusarium moniliforme y el Penicillium spp. invadían hasta el 100 % de los granos. El F. moniliforme que es un hongo de campo, indica que las prácticas de cultivo son malas y que la calidad del grano está deteriorada antes de su cosecha. Es probable que la incidencia de este hongo disminuya con el tiempo de almacenamiento (72), pero que el daño que ha causado no puede eliminarse. Los géneros Penicillium y Aspergillus corresponden a los hongos de almacén econtrados en otras partes del mundo (57, 28, 37). Cuando las muestras se almacenaron a temperaturas de 4 a 6°C. no se evitó el desarrollo de hongos y algunas muestras llegaron a estar completamente invadidas, encontrándose gran invasión de Penicillium sp. Cuando la humedad es alta el peligro de invasión fungosa no se evita o se logra con temperaturas muy bajas menores de -5°C (35, 64a, 98). El Aspergillus más frecuentemente encontrado en las muestras fue el A. versicolor y el que invadió más granos fue el A. echinulatus. Se encontró que el Fusarium moniliforme y el Penicillium spp. invadían los granos a todas las humedades encontradas en las muestras, mientras que A flavus, A wentii, A. chevalieri, A. echinulatus, A. ruber y Cladosporium se encontraban en muestras con humedades mayores de 16% en base húmeda.

El germen dañado u obscurecido no es un índice bueno

para saber el grado de infección del grano o del germen ya que el obscurecimiento del embrión está relacionado a un grado alto de infección y a procesos propios del grano tales como la germinación, como ya lo habían demostrado otros autores (79, 97,99, 107, 64). Los datos también demostraron que la infección por los hongos encontrados, ocurre principalmente en el germen y que el recuento de germen infectado da un grado más alto de infección debido a que los hongos encuentran un medio libre más favorable para su desarrollo.

Es indiscutible que el contenido de humedad del grano es el principal agente del deterioro del maíz en Guatemala y que si se quiere guardar este en forma segura, deberá secarse adecuadamente, almacenarse en bodegas adecuadas y controlarse periódicamente pues pequeños aumentos en la humedad delgrano pueden aumentar grandemente la frecuencia de hongos (31, 28) Debido a nuestras condiciones ambientales debe cuidarse la absorción de humedad del ambiente y evitar los daños físicos del grano ocasionados por agentes mecánicos, insectos y roedores los cuales contribuyen a una invasión más rápida del grano (37, 57, 81). Solo en esta forma se evitarán las grandes pérdidas que existen y se mantendrá la calidad y valor nutritivo delgrano

El análisis químico del maíz inoculado con A. flavus, A. versicolor, Penicillium sp., F. moniliforme y F. roseum, muestra que el desarrollo de estos hongos en el maíz, aumenta el contenido de proteina así como el de otros compuestos. En el caso del A. flavus y A. versicolor la proteina había sido triplicada. Es probable que los metabolitos producidos por los hongos antes mencionados, constituyen un buen material para la suplementación de alimentos, ya que en la actualidad está muy generalizado el uso de las levaduras y de la torula que son productores fungosos. Sin embargo habrá que estudiar el contenido de a

minoacidos de la proteína, su digestibilidad y su asimilación. Otro factor importante es el contenido de fibra cruda que se aumenta grandemente, en el caso del A. flavus se produjo un aumento de 7 veces y el cual podría impedir la asimilación de proteínas. Los aumentos observados posiblemente fueron debidos a la utilización de los carbohidratos por los hongos.

También habrá que estudiar el contenido de vitaminas, pues Lilly y Barnett (76) han indicado que los hongos absorven eficientemente las vitaminas del sustrato en que crecen, lo cual debe ser demostrado en el caso del maíz inoculado con los hongos antes mencionados. Estos estudios ofrecen una buena prespectiva pues los cereales, que en la actualidad constituyen una de las mayores fuentes de proteina en todo el mundo, podrían suplementarse con productos fungosos. El maíz, que es deficiente en lisina y triptofano, podría mejorar su valor nutritivo si se suplementara en esta forma.

Estos resultados nos hacen pensar en la posibilidad de utilizar los hongos como agentes de transformación de alimentos de poco valor nutritivo en otros alimentos con mayor valor nutritivo. Sin embargo, habrá que considerar que efecto tienen el alto contenido de fibra cruda, si la proteína elaborada es asimilable por los humanos y animales, si hay producción de metabolitos dañinos, y si se producen la forma en que deberán ser eliminados encontrar las condiciones óptimas para el desarrollo de dichos hongos, acortar el tiempo de desarrollo, estudiar la eficiencia de transformación que tienen investigar que parte del hongo: micelio o esporas, realizan la mejor transformación y que clase de enzimas se producen. Solo estudiando estos factores se podrá saber si los hongos pueden utilizarse en la elaboración de alimentos más nutritivos.

El mayor problema que presenta la utilización de los hongos como alimento es la producción de toxinas. El A. flavus produce aflatoxinas que son consideradas como uno de los agentes carcinógenos más potentes hasta hoy conocidos, además son muy resistentes al calor (11, 20, 71, 103, 141). Pero el problema de las toxinas podrían eliminarse si se encontraran procesos químicos capaces de destruirlas (3, 23, 48).

Será necesario hacer más estudios para saber hasta que punto los metabolitos fungosos son utilizables en la alimentación humana y animal.

El crecimiento y consumo de alimento de las ratas puestas en experimento indica que las ratas con dietas a base de maíz esterelizado, y tortillas de maíz esterelizado tuvieron un crecimiento e ingestión de alimento normales. Las ratas con dieta a base de tortillas de maíz inoculado con A.flavus crecieron menos que el control de tortillas, pero también ingirieron menos alimento Los índices de utilización de alimento en estos grupos fueron semejantes. Tampoco se encontraron síntomas patológicos en ninguno de estos animales.

Las ratas que estuvieron con una dieta a base de maíz inoculado con A. flavus perdieron peso, ingirieron poco alimento y la mayoría murió en plazos relativamente cortos. Las hembras y las ratas adultas mostraron una resistencia a las aflatoxinas. Todas las ratas con esta dieta mostraron trastornos nerviosos, falta de equilibrio, incoordinación en sus movimientos decaimiento, sangre en la orina y heces. Las necropsisas de las ratas, mostraron que las que morían rápidamente tenían daños muy evidentes en el estómago e intestinos. Las ratas que vivian períodos más largos mostraban, además de los daños antes descritos, algunas alteraciones en el hígado y riñones. Unicamente la rata que sobrevivió al tratamiento y luego fue puesta en una dieta suplementaria, mos

tró tumores muy evidentes en el hígado. Los estudios histopatológicos mostraron daños más específicos.

Es evidente que el proceso de elaboración de las tortillas destruye las aflatoxinas. Probablemente esta destrucción es debida al empleo de óxido de calcio, a la temperatura, a la exposición a la luz y a algunos otros factores. Sin embargo se necesitan más estudios para saber que porcentaje de la aflatoxina fue destruído o si únicamente hubo una transformación química que pudiera dar algunos problemas posteriores. Es indiscutible que también se tendrá que buscar un método más exacto para la determinación de las aflatoxinas en maíz, para no incurrir en los errores que actualmente existen y que dan valores cuantitativos inexactos.

Aparentemente el peligro de la aflatoxina en el maíz cuando este se usa como tortillas no existe. Sin embargo puede ocacionar grandes problemas cuando el maíz se usa en comidas a base de maíz tierno o harinas y en la elaboración de dietas para animales.

CONCLUSIONES

A. LOS HONGOS EN EL MAIZ DE GUATEMALA

Los resultados del presente estudio sugieren que un alto porcentaje del maíz de Guatemala se encuentra fuertemente infectado por hongos y que estos son los causantes de algunas de las pérdidas de grano en el campo y durante su almacenamiento. Es indiscutible que la baja producción de maíz está relacionado con las malas técnicas agrícolas empleadas y las cantidades de grano disponible para su uso se reducen más por la falta de un almacenamiento adecuado. Esto ha incidido en la economía nacional obligando a que cada año se importe más maíz debido a su escasez.

Nuestras condiciones ambientales y la falta de control de enfermedades permiten que el maíz en la planta sea fuertemente infectado por el Fusarium moniliforme. Cuando el grano ha sido infectado por éste hongo, cualquier método empleado para su control resulta ineficaz y el daño que ha causado no podrá repararse.

El alto contenido de humedad del grano cosechado promueve una invasión rápida de los hongos de almacén, Penicillium y Aspergillus. La facilidad con que éstos hongos puedan infectar el grano húmedo indican que es indispensable un eficaz control de humedad del grano y un buen almacenamiento, si se quieren reducir las pérdidas de maíz.

La invasión del grano por los hongos causa cambios bioquímicos en el grano, reduce su valor nutritivo y su germinación. Además el hongo produce substancias que pueden causar trastornos

fisiológicos y la muerte del animal que consume el grano infectado

Los resultados de este estudio, permiten sugerir:

1. La necesidad de adoptar y difundir técnicas modernas de agricultura para una baja incidencia de los hongos de campo.

2. El grano cosechado deberá secarse a humedades seguras de 12%, empleando el procedimiento más eficaz de secamiento. El secamiento debería llevarse a cabo en las regiones de producción. Una vez reducida la humedad, el grano puede transportarse a regiones más apropiadas para su almacenamiento. Esto resultaría en mayor economía ya que no se transportaría exceso de agua.

3. Se considera importante indicar la necesidad de realizar estudios sobre la construcción de silos y sobre su distribución en toda la república. Además es importante difundir la enseñanza de las técnicas de almacenamiento de los productos agrícolas tanto al agricultor como a los estudiantes de agricultura.
Unicamente la utilización de almacenes bien construidos y diseñados, con control de humedad, temperatura, aireación, plaga y enfermedades, puede evitar la pérdida de granos por la invasión de hongos de almacén.

4. La organización de los pequeños agricultores deberá hacerse en forma eficiente para que éstas personas puedan consumir granos de buena calidad y contar con almacenes adecuados para los mismos.

5. Se necesitan urgentemente leyes reguladoras de la calidad del grano. Solo con estandares de calidad altos podrán colocarse nuestros productos agrícolas en otros mercados, permitiéndonos una exportación más alta que mejore nuestra economía.

6. Cuando se cuente con almacenes adecuados deberá llevarse un control periódico del contenido de humedad, temperatura, aireación, germinación germen dañado, infección, microflora, insectos y granos quebrados. En el futuro será necesario incluir determinaciones de ácidos grasos, azúcares, proteínas, fibra cruda, minerales vitaminas, substancias tóxicas y algunos otros análisis.

B. EL VALOR NUTRITIVO DEL MAIZ INFECTADO CON HONGOS

Los hongos en sus procesos metabólicos pueden transformar carbohidratos en proteína que en el futuro podrán servir para suplementar los cereales. En el presente estudio se encontró que algunos hongos pueden aumentar grandemente el contenido de proteína del maíz. Sin embargo es necesario continuar los estudios para saber:

1. Los cambios químicos que pruducen los hongos en los diferentes sustratos en que crecen.

2. La composición de la proteína elaborada por los hongos por su contenido de aminoácidos, su digestibilidad y utilización.

3. La cantidad y clase de vitaminas que producen los hongos.

4. La eficiencia de transformación de substancias no utilizables a substancias útiles y que factores pueden aumentar o disminuir la transformación.

5. La importancia económica que tiene la utilización de los metabolitos fungosos y si pueden utilizarse sin ningún peligro en la alimentación humana y animal.

C. LAS TOXINAS PRODUCIDAS POR LOS HONGOS

El peligro que tiene las micotoxinas para la salud pública y producción animal son evidentes. Cada año se intensifican más los estudios de las micotoxinas y se está tratando de exigir su control en los alimentos y buscando los métodos para eliminarlas. Tal es el caso de las aflatoxinas, estudiadas en éste trabajo, que por ser uno de los factores carnicógenos más potentes hasta hoy conocidos, se está controlando en otros países, exigiendo concentraciones mínimas. Esto es muy notorio especialmente en los Estados Unidos é Inglaterra, donde el control de harina de maní es muy rigoroso y además este control será extendido a otros alimentos de consumo diario. En este estudio se comprobó el peligro inminente de las aflatoxinas. Aparentemente el procedimiento usual de elaboración de tortillas las destruye, El estudio de las aflatoxinas es más importante cuando el maíz se consume en forma de grano tierno, en harinas o en concentrados. Sin embargo se necesita más profundización de los estudios para saber:

1. Cual es el contenido de aflatoxinas en maíces de Guatemala.

2. Cuales son los cambios químicos que sufren las aflatoxinas en el proceso usual de elaboración de tortillas y que residuos de las mismas quedan en las tortillas.

3. Que modificaciones deben hacerse al método químico utilizado en la determinación de aflatoxinas, para que sus resultados cuantitativos sean exactos en maices.

4. Qué otras micotoxinas pueden existir en los maices de Guatemala y qué efecto tienen sobre la producción animal y salud.pública.

5. Cuáles son las formas de eliminar las toxinas de origen fungoso de los alimentos consumidos en Guatemala.

El problema de los hongos en los alimentos es grande y su magnitud sólo podrá medir en trabajos de investigación que se realicen. Habrá que divulgar los resultados obtenidos para que más personas se interesen en éste problema y puedan contribuir no solo en los trabajos prácticos sino también en financiar tales investigaciones para lograr un mejor desarrollo económico y social de Guatemala, Siendo consecuentemente una obligación impostergable del estado, incrementar tales investigaciones y estudios.

RESUMEN

Este trabajo es la iniciación del proyecto realizado en el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), para estudiar el efecto que tienen los hongos sobre el valor nutritivo, calidad y conservación del maíz y otros alimentos.

Los resultados de éste trabajo preliminar, indican que el maíz en Guatemala se encuentra altamente infectado por los hongos Fusarium, Pinicillium y Aspergillus. Las condiciones ambientales y las malas prácticas de cultivo contribuyen a la gran incidencia de Fusarium y Cladosporium mientras que el alto contenido de humedad y el mal almacenamiento del maíz permiten el gran desarrollo de Penicillium y Aspergillus. Los Aspergillus que se encontraron con mayor frecuencia fueron: A. versicolor, A. wentii, A. ruber, A. echinulatus y A. flavus.

También se encontró que el contenido de humedad de la mayoría de las muestras era superior al exigido para almacenar granos en forma segura y que éste era el factor responsable del alto grado de infección.

La germinación en muchas muestras era baja llegando en algunos casos a ser nula. La germinación dependía del contenído de humedad y de la infección. Los ácidos grasos variaron enormemente y su contenido estaba relacionado con el contenido de humedad, infección y germinación.

Se encontró que el máíz inoculado con A. flavus, A. versicolor, Penicillium sp. Fusarium roseum y F. moniliforme, habían alterado la composición de éste grano. El hallazgo más interesante fué el aumento en el contenido de proteínas, el cual,

en el caso del Fusarium roseum y A. flavus había sido triplicada. Esto nos indica que hay posibilidad de utilizar los procesos meta bolicas fungosos para producir suplementos protéicos, siempre que se eliminen algunos factores indeseables como las toxinas.

El Aspergillus flavus encontrado era productor de aflatoxinas en maíz. El ensayo biológico muestra el gran peligro que las aflatoxinas pueden representar en la salud pública y producción animal, ya que los animales alimentados con maíz crudo murieron pocos días después de iniciado el estudio. Es interesante el hallazgo encontrado que indica el procedimiento usual de elaboración de tortillas puede eliminar las aflatoxinas. Sin embargo mayor número de estudios son necesarios.

Como una conclusión importante se recomienda que se le dé más importancia a la conservación de los productos agrícolas básicos, puesto que el deterioro de los mismos y como ejemplo el maíz, por los hongos es grande y pone en peligro la salud pública y la producción animal. Es necesario disminuir las pérdidas de grano por éstas causas para evitar la importación de maíz que afecta nuestra economía, consecuentemente promover la mejora del cultivo y utilización del mismo para fines de una posible exportación.

BIBLIOGRAFIA

1. Albright, J.L. et al
Moldy Corn Toxicosis in Cattle. Journal of the American Veterinary Mecial Association, 144(9): 1013-1019. 1964.

2. Allcroft, R.
Aspects of Aflatoxicosis in Farm Animals. In Wogen, C N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceedings of a Symposium held at the Masachusetts Institute of Techonology, March 18 an 19, 1964. The M.I.T. Press, Cambridge Mass. (c 1965) pp. 261-263.

3. Andrellos, P.J. Seckwith, A.C. and Epply R. M.
Photochemicla Changes of Aflatoxin B1. Journal of the Association of Official Analytical Chemists. 50(2): 346 -350. 1967.

4. Andrellos, P.J. and Reid, G.
Decomposition (Chemical Indexes). Confirmatory tests for Aflatoxin B1. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, 47 (5): 801-803. 1964.

5. Arbuckle, Ronald E.
Microbiological Control in Food. Cereal Science Today 11 (1): 7-9, 26. 1966.

6. Armbrecht, B.H. et al
Mycotoxins I Studies on Aflatoxin Derived from Contaminated Peanut Meal and Certain Strain of Aspergillus Flavus. Journal of Association of Official Agricultural Chemists, 46 (5): 805-817. 1963.

7. Baker, D.
Fatty Acid Composition of Oil from Damagedand Wheat Cereal Chemistry, 39 (5): 393-397. 1962.

8. Baker, D., Neustadt, M.H. and Zeleny, L.
Application of Fat Acidity Test as an Index of Grain Deterioration. Cereal Chemistry, 34 (4): 226-233. 1957.

9. Baker D., Neustadt, M.H. and Zeleny, L.
Relationships berween Fat Acidity Values and Typesof Damage in Grain. Cereal Chemistry, 36(3): 308-311 1959.

10. Barnes, Daniel
Mycotoxinas as a Food Problem. Cereal Science Today, 11 (1): 4-6. 30. 1966.

11. Barnes, J.M. and Buttler, W.H.
Carnicogenic Activity of Aflatoxin to Rats. Nature, 202 (4936): 1016. 1964.

12. Barnes, D., Quintana, R. y De las Casas, E.
Manejo del Grano dentro del Almacén. Agricultura Técnica en México, Secretaría de Agricultura y Ganadería, México, D.F. Invierno 1958-1959, N° 7, pp. 14, 38-39.

13. Barnes, D., Smith, D.L. y Candia, D.
Almacenaje de Maíz en el Trópico con y sin Control de Humedad. Agricultura Técnica en México. Secretaría de Agricultura y Ganadería, México D.F. Invierno 1958-1959, N° 7, pp. 15, 43-45.

14. Barnett. H.L.
Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 2th Edition. Minneapolis, Minn. Burgess Publishing Co. 1956.

15. Bautista, G.M. and Linko, P.
Glutamic Acid Decarboxilase Activity as a Measure of Damage in Artificially Dried and Sored Corn. Cereal Chemistry, 39 (6): 455-459. 1962.

16. Boller, R.A. and Schroeder, H.W.
Aflatoxin Producing Potencial of Aspergillus flavus-oryzae, Isolated from Rice. Cereal Science Today, 11 (8): 343-344. 1966.

17. Bottomeley, R.A., Christensen, C.M. and Geddes, W. F.
Grain Storaga Studies IX. The Influence of various Temperatures, humidities, and Oxygen Concentration on Mold Growth and Biochemical Changes in Stored Yellow Corn. Cereal Chemistry, 27 (4(: 271-296. 1950.

18. Bottomley, R.A., Christensen, C.M. and Geddes, W.F.
Grain Storage Studies X. The Influence of Aeration, Time, and Moisture Content on Fat Acidity, Non-reducing Sugars, and Mold Flora Stored Yellow Corn. Cereal Chemistry, 29 (1): 53-64. 1952.

19. Bradley, W.B.
Cereal Grains as Food. Cereal Science Today, 11 (6): 240-242. 1966.

19a. Bressani, R. Paz y Paz, R., y Scrimeshaw, N.S.

Cambios Químicos en el Maíz durante la Preparación de las Tortillas. O.P.S. Publicaciones Científicas del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá . Recopilación N° 4 Publicación 59, pp. 279, 290.

20. Butler, W.H.
Liver Injury and Aflatoxin. In Wogen, G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceedings of Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology, March 18 and 19 1964. The M.I.T. Press. Cambridge, Mass. (c 1965) pp. 175-186.

21. Butler, W.H. and Barnes, J.M.
Carcinoma of the Clandular Stomach in Rats given Diets Containig Aflatoxin. Nature, 209 (5018): 90. 1966.

22. Campbell, A.D.
Report on Mycotoxins. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 50 (2): 343-346. 1967.

23. Campbell, A.D. and Funkhouser, J.T.
Collaborative Study on the Analysis of Aflatocins in Peanut Butter. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 49 (4): 730-739. 1966.

24. Campbell, A. P. Doresey, C. and Eppley, R.M.
Rapid Procedure for Extraction of Aflatoxin from Peanut Peanut Meal, and Reanut Butter for Bioassay. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, 47 (6): 1002-1003. 1964.

25. Chang, S.B. et al

Aflatoxin B2: Chemical Indenty and Biological Activi ty. Science, 142 (3596): 1191-1192. 1963.

25a. Chávez Batista, A. y Chávez Batista, O.
Hongos del suelo productores de Aflatoxina. De la VII Reunión Latinoamericana de Fitotecnia, Maracay, Venezuela, del 17 al 23 de septiembre de 1967. Suplemento N° 1 de los trabajos científicos N° 328 y 329. pp. 4 y 5.

26. Chen, Shui-chin, and Friedman, L.
Aflatoxin Determination in Seed Meal. Journal of the Association of Official Analytical Chemists. 49 (1): 28-33. 1966.

27. Cheng, K.K. and Sim, G.A.
Aflatoxin G1: Direct Determination of the Structure by the Method of Isomorphous Replacement. Nature, 201 (4925): 1185-1188. 1964.

28. Christensen, C.M.
Fungi in Cereal Grains and their Products. In Wogen, G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceedings of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Rechnology, March 18 and 19, 1964. The M.I.T. Press. Cambridge, Mass. (c 1965). pp. 9-14.

29. Christensen, C.M.
Los Hongos y el Hombre. Traducción de Ottenddaelder C.G. 2a edición. México D.F. Editorial Interamericana, 1964. 203 pp.

30. Christensen, C.M.
Fungi on and in Wheat Seed. Cereal Chemistry, 28(5) 408-415. 1951.

31. Christensen, C.M.
Influence of Samal Differences in Moisture Content upon the Invasión of Hard Red Winter Wheat by Aspergillus restrictus and A. repens. Cereal Chemistry, 40(4): 385 390. 1963.

32. Christensen, C.M.
Invasion of Stored Wheat by Aspergillus ochraceus. Ce real Chemistry, 39(2): 100-106. 1962.

33. Christensen, C.M.
Effect of fungi on the Quality of Cereal Grains. Reprinted from Food Quality: Effects of Production Practices and Processing, Publication N° 77 of American A ssociation for the Advancement of Science. Washington D.C. 1965. pp. 115-120.

34. Christensen, C.M. and Cohen, Mortiner.
Number, Kind and Soruce of Molds and Flour. Cereal Chemistry, 27(2): 178-185. 1950.

35. Christensen, C.M. and Dorworth, C.E.
Influence of Moisture Content, Temperature, and Time on Invasion of Soybeans by Storage fungi. Phytopathology, 56(4): 412-417. 1966.

36. Christensen, C.M. y López, L.C.
Daños que causan en México los hongos de Granos Al-

macenados. Centro Regional de Ayuda Técnica, Agencia para el Desarrollo Internacional, A.I.D. México, D.F. Editorial Rabasa, S.A. 27 pp. 1964.

37. Christensen, C.M. y López L.C.
Estudio sobre Almacenamiento de Semillas de Sorgo. Agricultura Técnica en México, 11(4): 156-160. 1963-1964.

38. Christensen, C.M. Olafson, J.H. and Geddes, W. F.
Grain Storage Studies VIII. Relation of Molds in Moist Stored Cottonseed to Increased Production of Carbón Dio cide, Fatty Acid and Heat. Cereal Chemistry, 25 (2): 109-128. 1949.

39. Christensen, C.M. and Qasem, S.
Note on a Rapid Method of Detecting Germ Damage in Wheat and Corn. Cereal Chemistry, 36 (5): 461-464. 1959.

40. Christensen, C.M. and Qasem, S.A.
Detection of Aspergillus restrictus in Stored Grain. Cereal Chemistry, 39 (1): 68-71. 1962.

41. Christensen, C.M. et al
Toxicity to Rats of Corn Invaded by Chaetomiun globosum. Applied Microbiology 14 (5): 774-777. 1966.

42. Christensen, C.M. and Linko, P.
Mositure Contents of Hard Red Winter Wheat as Determined By Meters and by Oven Dryin, and Influence of Smal Differences in Moisture Content upon Subsequet Deterioration of the Grain in Storage. Cereal Chemistry

40 (2): 129-137. 1963.

43. Del Prado, F.A. and Christensen, C.M.
Grain Storage Studies XII. The Fungus Flora of Stored Rice Seed. Cereal Chemistry, 29(6): 456-462. 1952.

44. De longh, H., Vles, R.O. and De Vogel, P.
The ocurence and Detection of Aflatoxin in Food. I n Wogan, D.N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceedings of a Symposim held at the Massachusetts Institute of Tech nology, March 18 and 19, 1964. Cambridge, Mass The M.I.T. Press (c 1965). pp 235-245.

44a. De longh, H., Vles, R.O. and Pelt, V.G.
Milk of Mammals Fed Aflatoxin-containing Diet. Nature, 202 (4931): 466-467. 1964.

45. De Vay, J.E.
A note on The Effect Of Mold Growth and Increased Moisture Content on the Free Amino Acids in Hard Red Spring Wheat. Cereal Chemistry, 29(4): 309-311. 1952

45a. Diener, Vil et al
Toxin-Producing Aspergillus Isolated from Domestic Pea nuts. Science, 142 (3598): 1491-1492. 1963.

46. Dodd, D.C.
Facial Eczema in Rumiants. In Wogen, G.N. Mycoto-xins in Foodstuffe; proceedings of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Techonoly, March 18 and 19, 1964. Cambridge, Mass. The M.I.T. Press (c 1965) pp. 105-110.

47. Engebrecht, R.H., Ayres, J.L. and Sinnhuber, R.O. Isolation and Determination of Aflatoxin B1 in Corron-seed Meals. Journal of the Association of Official A-gricultural Chemist, 48(4): 815-818. 1965.

48. Fischbach, H. and Campbell, A.D.
Note on Detroxification of Aflatoxins. Journal of the A ssociation of Official Agricultural Chemists, 48(1): 28. 1965.

49. Fisher, E.E. Kellock, A.W. and Wellington, N.A.M. Toxic Strain of Fusarium culmorum (W.G.Sm.) Sacc. from Zea mays L., Associated with Sickness in Dairy Ca ttle. Naute, 215(5098): 322. 1967.

50. Forgacs, J.
Stachybotruotoxicosis and Mold Corn Toxicosis. In Wo-gan, G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceeding of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Techno logy, March 18 and 19, 1964. Cambridge, Mass. The M.I.T. Press (c 1965) pp. 87-104.

51. Genest, C. and Smith, D.M.
A Note on the Detecction of Aflatoxins in Peanut Butter Journal of the Association of Official Agricultural Che-mists 46(5): 817-818. 1963.

52. Glass, R.L. et al
Grain Storage Studies XXVIII. The Influence of Tempe rature and Moisture Level on the Behavior of Wheat Sto-red in Air or Nitrogen. Cereal Chemistry, 36(4): 341-356. 1959.

53. Glass, R.L. and Geddes, W.F.
Grain Storage Studies XXVII. The Inorganic Phosphorus Content of Deterioratin Wheat. Cereal Chemistry, 36(2) 186-190. 1959.

54. Glass, R. L. and Geddes, W.F.
Grain Storage Studies. XXXI. Changes ocurring in Low -Molecular Weight Compounde in Deteriorating Wheat Cereal Chemistry, 37(4): 568-572. 1960.

55. Golumchuk, M., Cuendet, L.S. and Geddes, W.F.
Grain Storage Studies XXX. Chitin Content of Wheat as an Index of Mold Contamination and Wheat Deterioration. Cereal Chemistry, 37(4): 405-411. 1960.

56. Goldblatt, L.A.
Removal of Aflatoxin from Peanut Products with Acetone -Hexanewater solvent. In Wogan, G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; Proceedings of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology, March 18 and 19. Cambridge, Mass. The M.I.T. Press (c 1965)pp. 251-260.

57. Golumbic, C.
Fungel Spoillage in Stored Food Crops. In Wogan, G. N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceedingsof a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology, March 18 and 19, 1964. Ca,bridge, Mass. The M.I.T. Press (c 1965)pp 49-67.

58. Goodman, J.J. and Christensen, C.M.
Grain Storage Studies XI. Lipolytic Activity of Fungi I solated from Stored Corn. Cereal Chemistry, 29(4): 299

308. 1954.

59. Gwynne-Vaughan, H.C.I. and Barnes, B.
The Structure and Development of fungi. 2th edition. Cambridge at University Press. Percy Lund, Humphries Co. Ltd. Bradford, 1962. 449 pp.

60. Halver, John E.
Aflatoxicosis and Rainbow trout Hepatoma. In Wogan, G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceedings of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Thecnology, March 18 and 19, 1964. Cambridge, Mass. The M.I.T. Press (c 1965)pp. 209-234.

61. Heusinkveld, M.R., Shera, C.C. and Baur, F.J.
Note on Aflatoxin Analysis in Peanut, Peanut Meals and Peanut Products. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, 48(2): 448-449. 1965.

62. Hiscoks, E.S.
The Importance of Molds in the Deterioration of Tropical Foods and Feedstuffs. In Wogan, G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; prodeedings of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Tecnology, March 18 and 19, 1964. Cambridge, Mass. The M.I.T. Pres (c 1965). pp. 15-26.

63. Hodges, F.A. et al
Aflatoxins Isolated form Penicillium puberulum. Scien ce 145 (3639): 1439. 1964.

64. Houston, D.F. et al
Preservation of Roungh Rice by Cold Storage. Cereal

Chemistry, 36(2): 103-107. 1959.

64a. Houston, D.F. et al
Changes in Rogh Rice or differente moisture content during Storage at controled temperatures. Cereal Chemistry 34(6): 444-456. 1957.

65. Houston, D.F., Hunter, I.R. and Kester, E.B.
Effects of Steamin Fresh Paddy Rice on the Development of Free Fatty Acids during Storage of Brown Rice. Cereal Chemistry, 28(5): 394-399. 1951.

66. Hubbard, J.E., Earle, F.R. and Senti, F.R.
Moisture Relation in Wheat and Corn. Cereal Chemistry, 34(6): 422-433. 1957.

67. Humter, I.R., Houston, D.F. and Kester, E.B.
Develompent of Free Faty Acids during Storage of Brown (Husked rice). Cereal Chemistry, 28(3): 232-239. 1951

68. Jayaraman, A., Sreenivasamaurthy, V. and Parpia, H. A.B.
Extraction of Aflatoxin from Peanut Products by Dialysis Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, 48(6): 1256-1260. 1965.

69. Joffe, A.Z.
Toxin Production by Cereal Fungi Causing Toxic Alimentary Aleukia in Man. In Wogan, G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; procedings of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology, March 18 and 19, 1964 Cambridge, Mass. The M.I.T. Press (c 1965)pp.77- 88

70. Jones, H.C. Black, H.S. and Altuschul, A.M.
Comparision of the Effects of Gibberellic Acid and Aflatoxin in Germination Seeds. Nature, 214 (5084): 171-172. 1967.

70a. Jpslyn, M.A.
Methods in food Analysis Applied to Plant Products. Academic Press. New York, 1950 pp. 115-156.

71. Kinosita, R. and Shinkata, T.
On Toxic Moldy Rice. In Wogan, G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceedings of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology, March 18 and 19, 1964. Cambridge, Mass. The M.I.T. Press (c 1965)pp 111-132.

72. Kotheimer, J.B. and Christensen, C.M.
Microflora of Barley Kernels. Minesota Universiti. Minnesota Agricultural Experiment Station. Paper 4457 pp 1-7. Reprinted from Wallerstein Communications 24(83) April 1961.

73. Kutata, H. Ogasawara, K. and Frampton, V.
Microflora of Milled Rice. Cereal Chemistry, 34(1):47 55. 1957.

74. Legator, M.S. and Withrow, A.
Aflatoxin: Effect on Mitotic Division in Cultural Embryonic Lung Cells. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, 47(6): 1007-1009. 1964.

74a. Legator, M.S. Zuffante, S.M. and Harp, A.R.
Aflatoxin: Effect on Cultured Heteroploid Human Lung

Cells. Nature, 208(5008): 345-347. 1965.

75. Lilly, Lorna J.
Induction of Chromosome Aberrations by Aflatoxin. Nature, 207(4995): 433-434. 1965.

76. Lilly, Virgil Greene and Barnett, H.L.
Physicology of the Fungi. New York, McGraw Hill Book Co., Inc. 1951. pp. 464

77. Linch B.T. Glass, R.L. and Gedds, W.F.
Grain Storage Studies XXXII. Quantitative Changes Occurring in the Sugars of Wheat Deteriorating in the presence and absence of Molds. Cereal Chemistry, 39(3): 256-262. 1962.

78. Loeb, J.R. and Mayne, R.Y.
Effect of Moisture on the Microflora and Formation of Free Fatty Acids in Rice Bran. Cereal Chemistry, 29(3) 256-262. 1952.

79. López, L.C.
Influencia del Contenido de Humedad, Microflora y Tiempo de Almacenamiento sobre la Viabilidad y el Aspecto Exterior de la Semilla de Frijol. Agricultura Técnica en México, 2(3): 112-115. 1963-1964.

80. López, L.C. and Christensen, C.M.
Factors Influencing Invasion of Sorghum Seed by Storage Fungi. Plant Disease Reporter, 47(7): 597-601. 1963.

81. López, L.C. y Christensen, C.M.
Efecto del Ataque de Hongos en el Frijol Almacenado. Agricultura Técnica en México, 11(1): 33-37. 1962.

82. Lutey, R.L. and Christensen, C.M.
Influence of Moisture Content, Temperature, and Length of Storage upon Survival of Fungi in Barley Kernels. Minnesota University, Department of Plant Pathology and Botany, Institute of Agriculture. Paper 4995. Reprinted from Phytopathology, 53 (6): 713-717. 1963.

83. Majunder, S.K., Narasumhan, D.S. and Parpia, A. B
Microecological Factors of Microbial Spoilage and the ocurrence of Mycotoxins on Stored Grains. In Wogan, G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceedings of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology, March 18 and 19, 1964. Cambridge, Mass. The M.I.T. Press (c 1965) pp. 47.

84. Marasas, W.F.O.
Cute Toxicity to Rainbow Trout (Salmo gairdnerii) of a Metabolite Produced by Fungus Fussarium tricinctum Nature, 214(5090): 817-818. 1967.

85. May, O. E. et al
The Production of Kojic Acid by Aspergillus flavus. The Journal of the American Chemical Society, 53(2): 774 -782. 1931.

86. Milner, M.
Significance of Mycotoxins in International Protein Food of Efforts. In Wogan, C.N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceedings of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology, March 18 and 19, 1964. Cambridge, Mass. The M.I.T. Press (c 1965) pp. 247-249

87. Miyake, M. and Saito, M.

Mycotoxins of Penicillium islandicum sopp. University of Tokyo, Faculty of Medicine, Department of Patholo gy. March, 1964.

87a. Miyake, M. and Saito M.
Liver Injury and Liver Tumors Induced by Toxins of Penicillium islandicum sopp growing on Yellowed Rice. In Wogan, G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; prodeedings of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology, March 18 and 19, 1964. Cambridge, Mass The M.I.T. Press (c 1965) pp. 133-146.

88. Morton, H.E. et al
Toxicity and Antibiotic Activity of Kojic Acid produced by Aspergillus luteo-virscens. Journal of Bacteriology, 50(5): 579-584. 1945.

89. Nature
Alarm about Aflatoxin. Nature 121(5070): 1512. 1966

90. Nesheim, Stanley
Note on Ochratoxins. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 50(2): 370-371. 1967.

91. Nesheim, et al
Note on Aflatoxins Analysis in Peanut and Peanut Products. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, 47(3): 586. 1964.

92. Newberne, Paul M.
Carcinogenicity of Aflatoxin-contaminated Peanut Meals In Wogan, G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceedings of a Symposium held at the Massachusetts Institute of

Technology, March 18 and 19, 1964. Cambridge, Mass The M.I.T. Press (c 1965) pp. 187-208.

93. Okafor, N.
Thermophilic Micro-organisms from Rotting Maize. Nature, 210 (5032): 220-221. 1966.

94. Olafson, J.H., Christensen, C.M. and Geddes, W.F. Grain Storage Studies XV. Influence of Moisture Content, Comercial Grade, and Maturity on the Respiration and Chemical Deterioration of Corn. Minnesota University. Minnesota Agricultural Experiment Station. Paper 3128. Reprinted from Cereal Chemistry 31(4): 333-340. 1954.

95. Olemdo Vargas, G.
Investigaciones Teconológicas sobre la calidad en Semillas de Maíz, Compendio de Resultados Experimentales Comisión Nacional del Maíz S.A.G. México, 1958. pp. 78.

96. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación; FAO.
El maíz en la Alimentación: Estudio sobre su valor nutritivo. FAO, Estudios sobre Nutrición, N° 9, Roma, Italia, Marzo 1954. p. 100.

97. Papavizas, G.C. and Christensen, C.M.
Grain Storage Studies XXI. Effects of Invasión by Storage Fungi upon Germination of Wheat Seed and upon Development of Sick Wheat. Cereal Chemistry, 34(5): 350-359. 1957.

98. Papavizas, G.C. and Christensen, C.M.
Grain Storage Studies XXVI. Fungus Invasion and Deterioration of Wheat Stored at low Temperatures and Mousture Contents of 15 to 18 per cent. Cereal Chemistry, 35(1): 27-34. 1958.

99. Papavizas, G.C. and Christensen, C.M.
Grain Storage Studies XXIX. Effect of Invasion by Individual Species of Aspergillus upon Germination and Development of Discolored Germs in Wheat. Cereal Chemistry, 37(2): 197-203. 1960.

100. Peper, E.H. and Kiesling, R.L.
Communication to the Editor. Differential Media for the Isolation of Bacteria and Fungi from Plated Barley Kernels. Cereal Chemistry, 40(2): 191-193. 1963.

101. Peterson, Robert and Ciegler, A.
Note on a Water-Based Aflatoxin Standard. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 50(5): 1201-1202. 1967.

102. Philip, J. McL
Aflatoxin Nature, 213 (February 11): 543. 1967.

103. Pomeranz, Y.
Formation of Toxic Gompounds in Storage Damaged Foods and Feedstuffs. Cereal Science Today, 9(4): 93-94, 96 150. 1964.

104. Pons, W.A. Jr. et al
Determination of Aflatoxins in Agricultural Products: U.

se of Aqueous Acetone for Extraction. Journal of the A ssociation of Official Analytical Chemists. 49(3): 554 -562. 1966.

105. Pons, W.A., Roberston, J.A. Jr. and Goldblatt, L.A. Objective Flooremetric Measurement of Aflatoxins on T L.C. Plates. The Journal of the American Oil Chemists Society, 43(12): 665-669. 1966.

106. Purchase, I.F.H. and Steyn, M.
Estimation of Aflatoxins Min Milk. Journal of the Asso ciation of Official Analytical Chemists, 50 (2): 363-366. 1967.

107. Qasem, S.A. and Christensen, C.M.
Influence of Mousture Content, Temperature, and Time on the Deterioration of Stored Corn by Fungi. Minne-sota University. Minnesota Agricultural Experiment Sta tion. Paper 3924. Reprinted from Phytopathology, 48 (10): 544-549. 1958.

108. Qasem, S.A. and Christensen, C.M.
Influence of Various Factors on the Deterioration of Sto red Corn by Fungi. Minnesota University. Minnesota Agricultural Experiment Station. Papaer 4270. Reprin ted from Phytopathology, 50(10): 703-109. 1960.

109. Quackenbush, F.W.
Corn Caroteniods: Effects of Temperature and Moisture on Losses During Storage. Cereal Chemistry, 40(3): 266-269. 1963.

110. Ragai, Hassan, and Loomis, W.E.
Respiration of Maize Grain. Plant Physiology, 29(1):

49-55. 1954.

111. Rao, K.S., Madhavan, T.V. and Tulpule, P.G. Incidence of Toxigenic Strains of Aspergillus flavus affecting Groundnut Crop in Certain Coastal Diestricts or India. Indian Journal of Medical Research, 53(12): 1196-1202. 1965.

112. Rao, S.K. and Tulpule, P.G. Varietal Differences of Groundnut in the Production of Aflatoxin. Nature, 214 (5089): 738-739. 1967.

113. Raper, K.B., Fennell, D. and Austwick, P.K.C. The Genus Aspergillus, Baltimqre, U.S.A. The Williams & Wilkins Co., 1965. 686 pp.

114. Riker, A.J. and Riker, Regina Introduction to Research on Plant Disease. New York. Planographed by Jhon S. Swrit Co. 1936.

115. Schoental, Regina and White, A.F. Aflatoxins and "Albinism" in Plants. Nature, 205(4966) 57-58. 1965.

116. Shoeder, H.W. A Cause of Damagerd and Pecky Rice. Cereal Chemistry, 41(2): 122-124. 1964.

117. Sippel, L.W.M., Burnside, J.E. and Atwood, M.B. A Disease of Swine and Cattle Caused by Eating Moldy Corn. Georgia Coastal Plain Experiment Station. Paper 10. Reprinted from Proceedings Books. American Veterinary Medical Association, Ninetieth Annual Mee

ting, Toronto, July 20-23, 1953. pp. 174-181.

118. Smith, R.H. and McKernan, W.
Hepatotoxic Action of Chromatographically Separated Fraction of Aspergillus flavus Extract. Nature, 195(4 848): 1301-303. 1962.

118a. Smith, R.H.
The Influence of Toxins of Aspergillus flavus on the Incorporation of (C^{14}) leucine into proteins. Biochemical Journal. 88:50p-51p. 1963.

119. Stob, M. et al
Isolation on an Anabolic Uterotrophic Compound from Corn Infected with Gibberella zeae. Parduo University. Lafayette, Indiana. Agricultural Expermint Station Reprinted from Nature 196(4861): 1318. 1962.

120. Stoloff, L., Graff, A. and Rich, H.
Rapid Procedure for Aflatoxin Analysis in Cottonseed Products Journal of the Association of Official Analyti cal Chemists, 49(4): 740-743. 1966.

121. Stoloff, Leonard
Collaborative Study of a Method for the Identification of Aflatoxin B1 by Derivative Formation. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 50(2): 354-360. 1967.

122. Strezleck, S. and Kogan, L.
Note on thin Layer Chromatography of Aflatoxin. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 49(1): 33. 1966.

123. Sreenivasamurthy, V., Jayaraman, A, and Parpia, H. A.B.
Aflatoxin in Indian Peanuts: Analysis and Extraction. In Wogan, G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceedings of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Thecnology, March 18 and 19, 1964. Cambridge, Mass The M.I.T. Press (c 1965). pp. 251-260.

124. Sreenivasamurthy, V. et al
Detoxification of Aflatoxin in Peanut Meal by Hydrogen Peroxide. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 50(2): 350-354. 1967.

125. The Association of Official Agricultural Chemists.
Ash. Official Methods of Analysis 9th ed. 1960, pp. 158.

126. The Association of Official Agricultural Chemists.
Crude Fat or Ether Extract. Official Methods of Analysis 9th. ed. 1960. pp. 288.

127. The Association of Official Agricultural Chemists.
Crude Fiber. Official Methods of Analysis. 9th. ed. 1960. pp. 288.

128. The Association of Official Agricultural Chemists.
Fat Acidity. Methods II. Rapid Method for Corn. Official Methods of Analysis. 9th. ed. 1960, pp. 169-170.

129. The Association of Official Agricultural Chemists.
Moisture, Indierct Method. Official Methods of Analysis. 9th ed., 1960. pp. 158.

130. The Association of Official Agricultural Chemists. Nitrogen. Official Methods of Analysis. 9th ed., 19 60. pp. 12.

131. Theron, J.J., Liebenberg, N. and Joubert, H.J.B. Histochemistry and Electron Microscopy of Acute Liver Lesions Induced by Aflatoxin B1 in Ducklings. Nature 206(4987): 908-909. 1965.

132. Thom, C. and Rapper, K.B. A Mannual of the Aspergilli. Baltimore, U.S.A. The Williams & Wilkins Co., 1945.

133. Towsley, P.M. and Lee, E.G.H. Response of Fertilized Eggs of the Mollusk Bankia setacea to Aflatoxin. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 50(2): 361-363. 1967.

134. Toyonobu, A. et al. The Structure of Aflatoxin B1 and G1 In Wogan G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceedings of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology, March 18 and 19, 1964. Cambridge, Mass. The M.I.T. Press (c 1965). pp. 265-273.

135. Tager, W.T., Stoloff, L. and Campbell, A.D. A comparsion of Assay Procedures for Aflatoxin in Peanut Products. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, 47(6): 993-1001. 1964.

136. Tuite, J.F. and Christensen, C.M. Grain Storage Studies XXIII. Tine of Invasion of Wheat

Seed by various Species of Aspergillus Responsible for Deterioration of Stored Grain, and Source of Inoculum of these Fungi. Scientific Journal Series, Minnesota Agricultural Experiment Station. Paper 3635. Reprin ted from Phytopathology, 47(5): 265-268. 1957.

137. Tuite, J.F. and Christensen, C.M.
Grain Storage Studies XXIV. Moisture Content of Wheat Seed in Relation to Invasion of Seed by Species of the Aspergillus glacus group, and Effect of Invasion upon Germination of the seed. Sientific Journal Series, Minnesota, Agricultural Experiment Station. Paper 36 91. Reprinted from Phytopathology, 47(6): 323-327. 1957.

138. U.S. Departamento de Agricultura
Enfermedades de las Plantas. Traducción al español de José Meza Nieto, 1a. ed. México, D.F. Editorial He-rrero S.A. (c 1963) pp. 943-985.

139. U.S. Departamento de Agricultura
Semillas, Manual para el Análisis de su calidad. Tra-ducción al español de José Meza Nieto. Centro Regio nal de Ayuda Técnica, A.I.D. 1a. ed. México, D.F. Editorial Herrero, S.A. (c 1965), pp. 498.

140. Van Der Linde, J.A., Frens, A. M. and Van Esch, G.J Experiments with Cows Fed Groundnut Meal Containing Aflatoxin. In Wogan G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceedings of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology, Marc 18 and 19, 1964. Cam-bridge, Mass. The M.I.T. Press (c 1965) pp 247-249.

141. Van Der Merwe, K.V. et al
Ochratoxin A. a Toxic Metabolite Produced by Aspergi llus ochraceus Wilh. Nature, 205(4976): 1112-1113. 1965.

142. Verret, M.J., Marliac, J.P. and McLaughlin, J.
Use of the Cicken Embryo in the Assay of Aflatoxin Toxicity Journal of the Association of Official Agricul tural Chemists 47(6): 1003-1006. 1964.

143. Wellhausen, J.E. y Colaboradores
Razas de Maíz en la América Central, Traducción al español de Gonzalo Blanco Macias. Secretaría de A-gricultura y Ganadería de México. Folleto Técnico Nº 31. México, D.F. Oficina de Estudios Especiales, 19 58. 135. pp. Traducido de la National Academy of Sciences National Research Council Washington, D.C Bajo la publicación 511, 1957.

144. Welty, R.E. Qasem, S.A. and Christensen, C.M.
Test of Corn Stored Four Years in a Comercial Bin. Ce real Chemistry, 40(3): 277-282. 1963.

145. Wilbur, Donald A., Quintana R. and Barnes, D.
Temperaturas observadas en Trigo Almacenado en Toluca Agricultura Técnica en México. Secretaría de Agricul-tura y Ganadería, Nº 10 pp. 28-31, Verano de 1960

146. Wildman, J.D.
Note on Occurrence of Giant Celles in Aspergillus Fla vus Link. Journal of the Association of Official Analy tical Chemists, 49(3): 562-566. 1966.

147. Wilson, Benjamin J.
Toxin from Aspergillus flavus: Production on Food Materials of a Substance Causing Tremors in Mico. Sience, 144(3624): 177-178. 1964.

148. Wilson, Benjamin J.
Toxic Substance Formed by Filamentous Fungi Growing on Feedstuffs. In Wogan, G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceedings of a Symposium held at the Massachu setts Institute of Technology, March 18 and 19, 1964. Cambridge, Mass. The M.I.T. Press (c 1965) pp. 147 -149.

149. Wiseman, H.C., Jacobson, W.C. and Harmeyer, W.C Note on Removal of Pigment from Chloroform Extract of Aflatoxin Cultures With Copper Carbonate. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 50(4): 983-987. 1967.

150. Wogan, Gerald N,
Experimental Toxicity and Carcinogenicity of Aflatoxins In Wogan, G.N. Mycotoxins in Foodstuffs; proceedings of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology, March 18 and 19, 1964. Cambridge, Mass The M.I.T. Press (c 1965) pp. 163-173.

Cuadro Nº 1

COMPOSICION DE LAS DIETAS EMPLEADAS EN LOS EXPERIMENTOS BIOLOGICOS

Ingredientes[1]	1	2	3	4
Maíz esterilizado[2]	80.0	-	-	-
Maíz inoculado con Aspergillus flavus	---	80.0	-	-
Tortillas de maíz esterilizado	---	-	80.0	-
Tortillas de maíz con Aspergillus flavus	---	-	-	80.0
Minerales (Hegsted)	4.0	4.0	4.0	4.0
Aceite de algodón	5.0	5.0	5.0	5.0
Aceite de hígado de bacalao	1.0	1.0	1.0	1.0
Caseína libre de vitaminas	10.0	10.0	10.0	10.0
TOTAL	100.0	100.0	100.0	100.0
Solución de vitaminas	5 mls.	5 mls.	5 mls.	5 mls.

1 Dados en porciento
2 Maíz amarillo

Cuadro N° 2

COMPOSICION DE LA DIETA SUPLEMENTARIA

Ingredientes	%
Caseína	20.0
Aceite de algodón	5.0
Aceite de hígado de bacalao	1.0
Minerales Hegsted	4.0
Glucosa	20.0
Almidón	49.9
Vitaminas (Dohyfral para pollos)	0.1
TOTAL	100.0

Cuadro Nº 3

LOS HONGOS AISLADOS, SU FRECUENCIA Y EL PORCIENTO DE INFECCION EN MAICES PROCEDENTES DE MERCADOS Y FINCAS DE GUATEMALA

HONGO	FRECUENCIA		INFECCION %	
	Muestras	Porciento	(1)	(2)
1. Penicillium spp.	52	93	47.13	43.77
2. Fusarium moniliforme	51	91	33.61	30.61
3. Fusarium roseum	12	21	3.17	0.68
4. Fusarium oxysporum	6	11	2.87	0.30
5. Aspergillus versicolor	32	57	12.97	7.41
6. Aspergillus Wentii	18	32	12.78	4.11
7. Aspergillus ruber	15	27	16.20	4.34
8. Aspergillus echinulatus	14	25	40.21	10.05
9. Aspergillus flavus	14	25	10.07	2.52
10. Aspergillus niger	8	14	12.86	1.84
11. Aspergillus chevalieri	6	11	45.67	4.89
12. Aspergillus terreus	2	4	1.00	0.04
13. Aspergillus candidus	1	2	1.00	0.02
14. Aspergillus umbrosus	1	2	1.00	0.02
15. Cladosporium sp.	15	27	2.27	0.61
16. Nigrospora sp.	10	18	4.70	0.84
17. Botrydiplodia sp.	9	16	6.44	1.04
18. Diplodia zeae	4	7	2.25	0.16
19. Cephalosporium sp.	3	5	2.33	0.12
20. Mycosphaerella sp.	1	2	3.00	0.05

(1) En base a la frecuencia de muestras en que aparece

(2) En base a 56 muestras

Cuadro Nº 4

COMPARACION ENTRE EL % DE INFECCION DE LOS GRANOS DE MAIZ Y EL % DE GERMEN DAÑADO E INFECTADO DE LOS MISMOS

Infección Rango %	Frecuencia	Germen dañado %	Germen Infectado %
0.0- 10.0	2	0	2
10.5- 20.0	3	7	14
20.5- 30.0	3	6	39
30.5- 40.0	6	9	45
40.5- 50.0	9	16	66
50.5- 60.0	2	49	64
60.5- 70.0	3	10	63
70.5- 80.0	6	15	87
80.5- 90.0	8	15	94
90.5-100.0	17	57	97

Cuadro Nº 5

PROMEDIO DE LOS ACIDOS GRASOS LIBRES, INFECCION Y GERMINACION (1) EN BASE AL RANGO DE HUMEDAD ENCONTRADO EN MUESTRAS DE MAIZ, PROCEDENTES DE MERCADOS Y FINCAS DE GUATEMALA

Rango de humedad	Frecuencia	Acidos Grasos libres, % mgrs en base seca	Infección %	Germinación %
12.1-13.0 (2)	4	41.5	24	93
13.1-14.0	0	----	--	--
14.1-15.0	2	41.6	58	92
15.1-16.0	1	98.7	13	95
16.1-17.0	11	90.7	46	94
17.1-18.0	10	125.6 (3)	50	90
18.1-19.0	7	96.0	66	89
19.1-20.0	5	80.3	69	79
20.1-21.0	4	90.0	86	80
21.1-22.0	6	200.7	93	62
22.1-23.0	2	191.5	96	57
23.1-24.0	2	208.8	97	22
24.1-25.0	5	272.8	97	33

(1) En base a 59 muestras. Las tres restantes tenían humedades entre 31 y 38%.

(2) Muestras procedentes de almacenes con ambiente controlado y con tratamiento para su conservación.

(3) Dos datos fueron anulados

Cuadro Nº 6

EFECTO DE LA INFECCION SOBRE LOS ACIDOS GRASOS LIBRES Y LA GERMINACION

Infección % Rango	Frecuencia	Acidos Grasos Libres. mgrs % (1)	Germinación %
0.0- 10.0	2	45.0	90
10.5- 20.0	3	91.2	97
20.5- 30.0	3	86.2	92
30.5- 40.0	6	70.7	96
40.5- 50.0	9	79.7	93
50.5- 60.0	2	118.0	82
60.5- 70.0	3	137.6	92
70.5- 80.0	6	135.6	88
80.5- 90.0	8	151.4	74
90.5- 100.0	17	190.4	50

(1) En base seca

Cuadro N° 7

INFLUENCIA DE LA GERMINACION SOBRE EL CONTENIDO DE GERMEN DAÑADO, GERMEN INFECTADO Y ACIDOS GRASOS LIBRES

Germinación Rango %	Frecuencia	Germen dañado %	Germen Infectado %	Acidos Grasos libres % (1)
0.0- 10.0	4	100	100	222.3
10,5- 20.0	-	---	---	-----
20.5- 30.0	-	---	---	-----
30.5- 40.0	3	61	98	436.2(2)
40.5- 50.0	1	30	100	28.0
50.5- 60.0	2	40	100	358.4
60.5- 70.0	7	44	99	123.0(3)
70.5- 80.0	10	24	88	140.6
80.5- 90.0	9	24	75	128.1
90.5- 100.0	26	11	51	76.7

(1) En base seca

(2) Se suprimió un valor

(3) En dos muestras no se determinó el contenido de ácidos grasos libres

COMPOSICION DE LOS MAICES INOCULADOS CON DIFERENTES HONGOS

Material (1)	Humedad	Grasa	Fibra Cruda	Proteínas	Cenizas
Control	14.4	4.1	2.3	6.8	1.20
Esterilizado	13.2	4.0	2.0	7.0	1.10
Inoculado con: (2)					
Fusarium roseum	11.7	5.7	26.7	26.7	3.87
Aspergillus flavus	11.1	5.1	15.9	21.4	4.15
Aspergillus versicolor	10.8	4.2	17.9	19.2	2.96
Penicillium sp.	12.0	5.1	17.9	17.5	3.82
Fusarium moniliforme	11.2	6.0	8.2	16.3	2.33

(1) Maíz amarillo molido

(2) De 6 meses de desarrollo

(3) Todos los valores están dados en base húmeda

Cuadro N° 9

EFECTO DEL MAIZ INOCULADO CON ASPERGILLUS FLAVUS, CUANDO SE UTILIZA COMO ALIMENTO O EN LA ELABORACION DE TORTILLAS, SOBRE EL CRECIMIENTO DE RATAS

Grupo N°	Tratamiento (1)	Aumento de peso (2) grs	Alimento consumido grs	Indice de Utilización de alimento grs	Mortalidad
1	Maíz control	228	719	3.2	0/8
2	Maíz con Aspergillus flavus	24 (3)	211	8.8	7/8
3	Tortillas, control	221	708	3.2	0/8
4	Tortillas de maíz con A. flavus	186	651	3.5	0/8
5	Maíz control	132	701	5.3	0/8
6	Maíz con A. flavus	27 (4)	260	---	6/8

(1) Maíz amarillo. En cada grupo se usaron 8 ratas, 4 hembras y 4 machos. Los grupos del 1 al 4 estaban constituidos por ratas de cuatro semanas de edad. Los grupos 5 y 6 eran ratas adultas, de más o menos 10 semanas de edad. El maíz inoculado con Aspergillus flavus tenía 1 mes de incubación.

(2) Seis semanas

(3) Resultado de la única rata sobreviviente

(4) Promedio de las dos ratas sobrevivientes

Cuadro N° 9

EFECTO DEL MAIZ INOCULADO CON ASPERGILLUS FLAVUS, CUANDO SE UTILIZA COMO ALIMENTO O EN LA ELABORACION DE TORTILLAS, SOBRE EL CRECIMIENTO DE RATAS

Grupo N°	Tratamiento (1)	Aumento de peso (2) grs	Alimento consumido grs	Indice de Utilización de alimento grs	Mortalidad
1	Maíz control	228	719	3.2	0/8
2	Maíz con Aspergillus flavus	24 (3)	211	8.8	7/8
3	Tortillas, control	221	708	3.2	0/8
4	Tortillas de maíz con A. flavus	186	651	3.5	0/8
5	Maíz control	132	701	5.3	0/8
6	Maíz con A. flavus	27 (4)	260	---	6/8

(1) Maíz amarillo. En cada grupo se usaron 8 ratas, 4 hembras y 4 machos. Los grupos del 1 al 4 estaban constituidos por ratas de cuatro semanas de edad. Los grupos 5 y 6 eran ratas adultas, de más o menos 10 semanas de edad. El maíz inoculado con Aspergillus flavus tenía 1 mes de incubación.

(2) Seis semanas

(3) Resultado de la única rata sobreviviente

(4) Promedio de las dos ratas sobrevivientes

Cuadro N° 10

COMPOSICION QUIMICA DE LAS DIETAS, DEL MAIZ Y DE LAS TORTILLAS, UTILIZADOS EN EL ENSAYO BIOLOGICO

Material	Agua grs	Grasa grs	Fibra cruda grs	Nitrógeno grs	Proteína grs	Cenizas grs
Dieta N° 1	12.4	9.9	2.1	2.56	16.1	3.86
Dieta N° 2	12.5	13.4	7.2	3.28	20.5	4.36
Dieta N° 3	11.1	7.6	1.7	2.16	13.5	4.32
Dieta N° 4	11.0	10.0	6.8	2.33	14.6	4.74
Maíz esterilizado	11.9	4.8	2.0	1.44	9.0	1.38
Maíz inoculado con A. flavus	8.0	11.3	10.2	2.59	16.2	1.82
Tortilla, maíz esterilizado	10.1	2.9	2.0	1.53	9.6	1.76
Tortilla, maíz inoc. A. Flavus	9.8	5.7	9.4	1.87	11.7	2.80

Los datos están dados en base húmeda

30 de enero de 1968

Ing. Julio René Castañeda
Decano
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala
Ciudad

Estimado señor Decano:

Atentamente me permito informarle que he asesorado a la Señorita Br. María Luisa Martínez, en el desarrollo de su trabajo de investigación y preparación de Tesis de Grado, como requisito para optar el título de Ingeniero Agrónomo

Dicho trabajo titulado "Efecto de Ciertos Hongos sobre el Valor Nutritivo, Calidad y Conservación del Maíz en Guatemala", llena ampliamente los requisitos para ser aceptada como Tesis de Grado. En nuestra opinión, creemos que es una excelente contribución para el desarrollo técnico de la Agricultura de Guatemala y para resolver en parte el grave problema que nuestras poblaciones pueden enfrentar en el futuro también en la importancia que la calidad de los productos agropecuarios tienen sobre la salud de la población y el desarrollo económico de nuestros pueblos.

Fué en verdad muy satisfactorio para nosotros asesorar a la Señorita Martínez, quién demostró en todo momento mucho interés y empeño en el desarrollo de su trabajo de Tesis.

Lo saluda atentamente,

Ricardo Bressani, Jefe
División de Ciencias Agrícolas
y Alimentos

IN-549-68

Guatemala,
1 de Febrero de 1968

Señor Decano de la
Facultad de Agronomía
Ing. René Castañeda Paz
Ciudad Universitaria

Señor Decano:

Muy atentamente me dirijo a usted para hacer de su conocimiento que he procedido a revisar el trabajo de la Ing. Agr. Infieri María Luisa Martínez Herrera, Intitulado: "ESTUDIO DE CIERTOS HONGOS SOBRE EL VALOR NUTRITIVO Y CONSERVACION DEL MAIZ EN GUATEMALA", correspondiente a su Tesis previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en el grado de Licenciado.

En mi concepto es un magnífico trabajo y por lo tanto puede ser aceptado como tesis en la culminación de sus estudios en la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Sin otro particular, me suscribo del señor Decano con todo respeto y consideración muy atentamente.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Mario Molina Llardén
Director del Departamento
de Fitotécnia

Vº Bº
Dr. Ricardo Bressani
Asesor

Imprímase
Ing. Agr. René Castañeda Paz
Decano

FE DE ERRATAS

Dice	Debe decir
Contenido: línea 11 III Materiales y métodos 2a. evaluación del daño.	Prevalencia del daño y prevalencia
Contenido V Discosión	Discusión
Pag. 3 línea 7 Elaboración de alimentos Pero lo cual	por lo cual
Pag. 9 línea 7 mascular	muscular
Pag. 10 línea 10 obsersión vvaginal	ebersión vaginal
Pag. 13 línea 3 vitamina E y el contenido	vitamina e, pero el contenido
Pag. 13 última línea parológilo	patológicos
Pag. 14 línea 5 Compasisión	Composición
Pag. 14 línea 9 de socio	de sodio

Pag. 15 línea 4 por billón	por 100 000
Pag. 15 línea 24 sol entre	solvente
Pag. 15 línea 26 Desinfómetro	desitómetro
Pag. 19 línea 2 cincosy	cinco y
Pag. 20 línea 1 20 y 15 minutos	20 x 5 minutos
Pag. 24 línea 15 ifectados	infectados
Pag. 25 línea 21 derminaron	germinaron
Pag. 26 línea 26 mai coaaddo	maní cuando
Pag. 28 línea 1 descon posición	descomposición
Pag. 31 línea 14 dóculos	fóculos
Pag. 31 línea 24 heático	hepático
Pag. 31 línea 30 hépatico	hepático

Pag. 35 línea 9	
idica	indica
Pag. 37 línea 30	
productores	productos
Pag. 39 línea 26	
necropsisas	necropsias
Pag. 43 línea 21	
pruducen	producen
Pag. 45 línea 10	
medir	medirse
Pag. 48 línea 4	
mecial	medical
Pag. 48 línea 11	
Seckwith	Beckwith
Epply	Eppley
Pag. 48 línea 12	
photochemicla	photochemical
Pag. 49 línea 2	
damaged and	damaged corn and
Pag. 49 línea 9	
berwcen	between
Pag. 49 línea 13	
Mycotoxinas	Mycotoxins
Pag. 50 línea 6	
Sored	Stored

Pag. 50 línea 12 Bottomeley	Bottomley
Pag. 50 línea 17 (4(:	(4):
Pag. 50 línea 21 Flora stored	Flora of stored
Pag. 51 línea 6 wogen	wogan
Pag. 51 línea 12 Clandular	glandular
Pag. 51 línea 18 Aflatocins	Aflatoxins
Pag. 51 línea 23 Reanut	Peanut
Pag. 53 línea 5 samal	small
Pag. 53 línea 19 Soruce of Molds and	Source of Molds in
Pag. 54 línea 10-11 diocide	dioxide
Pag. 54 línea 24 Mositure	Moisture
Pag. 54 línea 26 smal	small

Pag. 54 línea 26 Subsequet	Subsequent
Pag. 55 línea 6 Ocurence	Occurrence
Pag. 55 línea 8 Symposim	Symposium
Pag. 55 línea 22 Rumiqnts Wogen	Ruminants Wogan
Pag. 55 línea 23 Foodstuffe	Foodstuffs
Pag. 55 línea 24 Techonoly	Technology
Pag. 56 línea 2 corronseed	cottonseed
Pag. 56 línea 6 Detroxification	Detosification
Pag. 56 línea 14 Stachybotruo toxicosis	Stachybotryo toxicosis
Pag. 56 línea 14 mold	moldy
Pag. 56 línea 20 detecction	detection
Pag. 57 línea 24 ca,bridge	cambridge

Pag. 58 línea 27	
Roungh	Rough
Pag. 59 línea 3	
differente	different
Pag. 59 línea	
Effecto of steamin	Effect of steaming
Pag. 59 línea 13	
Humter	Hunter
Pag. 59 línea 14	
Develompent	Development
Brown	brown
Pag. 60 línea 2	
Comparision	Comparison
Pag. 60 línea 15	
Minesota universiti	Minnesota university
Pag. 60 línea 23-24	
Embrynic	Embryonic
Pag. 61 línea 6	
Physicology	Physiology
Pag. 62 línea 15	
Cute	Acute
Pag. 62 línea 16	
Fussarium	Fusarium
Pag. 62 línea 24	
of Efforts	Efforts

Pag. 63 línea 7 pro deedings	proceedings
Pag. 63 línea 13 luteo-virsceus	luteo-virescens
Pag. 64 línea 13 olemdo	olmedo
Pag. 65 línea 4 Mousture	Moisture
Pag. 65 línea 11 Peper	Pepper
Pag. 65 línea 22 Gompounds	Compounds
Pag. 66 línea 5 Flooremetric	Fluoremetric
Pag. 66 línea 9 Min	M in
Pag. 66 línea 18 Mousture	Moisture
Pag. 66 línea 21 Papaer	Paper
Pag. 66 línea 24 Caroteniods	Carotenoids
Pag. 67 línea 4 Diestricts	Districts

Pag. 67 línea 5	
or	of
Pag. 67 línea 20	
damagerd	damaged
Pag. 68 línea 12	
parduo	pardue
Pag. 69 línea 26	
Indierct	Indirect
Tine	Time
Pag. 71 línea 9	
glacus	glaucus
Pag. 72 línea 6	
Ciken	chicken
Pag. 72 línea	
Celles	cells
Pag. 73 línea 3	
Mico	Mice
Cuadro 8 línea 3	
proteina 26.7	23.3
Cuadro 9	
aumento en peso	
27(4)	-27(4)