

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDADXOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL
LICENCIATURA EN AGRONOMÍA

Informe Final de Servicio Social

“Presencia de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* en cultivo de maíz (*Zea mays*) en El Oro de Hidalgo, Estado de México”.

Prestador de Servicio Social:

Palma López Luis Omar
Matricula: 2162033447

Asesor Interno:

Dr. José Jesús Pérez González
No. Económico: 30703
Firma_____

Mtro. Guillermo Castro Miranda
No. Económico: 24518
Firma_____

Asesor Externo:

Mtro. _____
Cédula Profesional _____
Firma _____

Lugar de realización:

Coordinación de la Licenciatura de Agronomía.
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.
(100% en línea - Proyecto Emergente UAMX).

Fecha de inicio y terminación:

Del 17 de noviembre del 2021 al 17 de mayo del 2022.

“De maíz amarillo y de maíz blanco se hizo su carne; de masa de maíz se hicieron los brazos y las piernas del hombre. Únicamente masa de maíz entro en la carne de nuestros padres.” “Sembrado para comer es sagrado sustento del hombre que fue hecho de maíz”. -POPOL VUH-



INDICE

| | |
|--|-----------|
| • INTRODUCCIÓN | 4 |
| • JUSTIFICACIÓN | 6 |
| • MARCO TEÓRICO | 7 |
| • Origen y Distribución | 7 |
| • México y contexto mundial | 7 |
| • Producción de maíz en el Estado de México | 8 |
| • Pérdidas por problemas fúngicos | 9 |
| • Clasificación taxonómica | 9 |
| • Botánica del cultivo | 10 |
| • Generalidades del cultivo (Requerimientos) | 10 |
| • Hongos | 10 |
| • Aflatoxinas | 11 |
| • <i>Aspergillus parasiticus</i> | 11 |
| • <i>Aspergillus flavus</i> | 12 |
| • Normatividad | 12 |
| • Seguridad alimentaria (Buenas prácticas) | 13 |
| • OBJETIVOS | 13 |
| • Objetivo general | 13 |
| • Objetivos particulares | 13 |
| • METAS | 13 |
| • METODOLOGÍA | 14 |
| • Sitio de estudio | 14 |
| • Método de muestreo | 15 |
| • Método de colecta | 16 |
| • Preparación de medios de cultivo agar papa dextrosa (PDA) | 17 |
| • Preparación de las muestras para su cultivo | 17 |
| • Conteo de colonias fúngicas | 19 |
| • Aislamiento de colonias fúngicas | 19 |
| • Identificación de colonias fúngicas | 20 |
| • Fluorescencia | 20 |
| • RESULTADOS | 21 |
| • Identificación de los géneros <i>Aspergillus flavus</i> y <i>parasiticus</i> | 21 |
| • Género de <i>A. flavus</i> presente en cada muestra de maíz | 23 |
| • Representación del conteo de colonias fúngicas correspondientes a la primera siembra A1 y B1. | 23 |
| • Representación del conteo de colonias fúngicas correspondientes al aislamiento a partir A1 y B1 denominada a1 y b1. | 24 |
| • Representación gráfica del conteo de colonias fúngicas a partir de la identificación de <i>Aspergillus flavus</i>. | 24 |
| • OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS | 26 |
| • CONCLUSIONES | 26 |
| • BIBLIOGRAFÍA | 27 |

INTRODUCCIÓN

El maíz es uno de los alimentos básicos más importantes conocidos por el ser humano, ya que en torno a él se pueden realizar gran cantidad de preparaciones, así como también pueden obtenerse de él numerosos productos derivados (por ejemplo, harinas, aceites, etc.), subsecuentemente, el maíz es altamente utilizado como alimento de gran parte de los ganados, que luego son consumidos o utilizados como productores de alimento, por lo cual su importancia es enorme (Bembibre, 2021). El maíz es una planta perteneciente a la familia Gramíneas o Poáceas, lo cual quiere decir que es una planta que consta de un tallo con una estructura cilíndrica hueca que se cubre de nudos y que da origen a mazorcas rellenas de granos cubiertos por hojas largas y angostas, a diferencia de otros cultivos pertenecientes a las gramíneas como el trigo que es originario de América y no fue conocido por los europeos hasta el momento en que llegaron a este continente y aprendieron que gran parte de la dieta de las sociedades americanas se basaba en su uso (Bembibre, 2021).

La importancia del maíz para el ser humano ha sido siempre muy clara, mientras que en algunas regiones se conocen centenares de especies de maíz, en la mayor parte del planeta se consumen sólo un puñado que son los más comunes y los más accesibles en lo que a geografía se refiere. Hoy en día se produce en todos los continentes excepto en la Antártida, altamente valorado por su rendimiento a diferencia de otros granos en lo que a costos se refiere, es uno de los cultivos más importantes del mundo junto con el trigo y el arroz (Trueba, 2009).

El gobierno de México tiene presente la importancia alimentaria, industrial, política, económica, cultural y social que tiene el cultivo de maíz en el país y son los pequeños productores los encargados mayoritariamente de la siembra en su forma comercial, así como en sus variedades nativas (SADR, 2020). Los pequeños productores aportan alrededor de 60% de la producción nacional, al unirse con los medianos productores (de hasta 10t/ha), suman el 91% de la superficie sembrada, lo que significa que juntos aportan alrededor de 75% de la producción nacional de maíz (SADR, 2020).

En 2019, la superficie con rendimiento de maíz grano menor a 5 t/ha, sumó 84% de la superficie cultivada, de la que se obtuvieron 14 millones 789 mil 384 toneladas de un total de 27 millones 228 mil 242 toneladas. Para los próximos años, se espera un incremento de un 5%, por lo que se pretende sobrepasar la producción anterior (SADR, 2020).

Por otra parte puede existir la presencia de elementos nocivos en este alimento como lo son las micotoxinas provenientes de especies fúngicas diversas las cuales constituyen un problema que comienza en el campo continúa durante el acopio, la

comercialización y finalmente en la mesa del consumidor y cuya única solución al problema es prevenir el desarrollo fúngico, ya que se ha comprobado la acción de unas pocas toxinas en brotes de intoxicación humana y animal, las restantes han sido reestudiadas en ensayos experimentales (Carrillo y Audisio, 2007).

El “Manual de microbiología de los alimentos”, (Carrillo y Audisio, 2007) refiere que los hongos crecen sobre los materiales vegetales produciendo el deterioro de estos, ellos forman metabolitos secundarios que actúan como antibióticos que favorecen la prevalencia del moho frente a otros microorganismos, muchos de los cuales son tóxicos para plantas y/o animales. Estos metabolitos que enferman o matan a los animales que los consumen, se conocen como micotoxinas y la afección se llama micotoxicosis. Una micotoxicosis primaria se produce al consumir vegetales contaminados y secundaria al ingerir carne o leche de animales que comieron forrajes con micotoxinas (Carrillo y Audisio, 2007).

Las consecuencias económicas de las micotoxinas, en término de pérdidas de alimento y peso, reducción de la productividad en especies vegetales y de los animales, pérdida de ingresos en divisas, aumento del costo de la infección y los análisis, compensación por reclamaciones, costos de presunción y medidas de control, son considerables. Cabe afirmar que las micotoxinas son objeto de interés a nivel mundial, debido a las importantes pérdidas económicas que acarrear sus efectos sobre la salud de las personas, la productividad de los animales y el comercio nacional e internacional. Las especies más frecuentes corresponden a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* (Gelderen et al., 2018).

Las pérdidas económicas provocadas por los hongos están asociadas con sus efectos en la salud humana, la productividad vegetal y animal y el comercio tanto nacional como internacional. Se estima que el 25% de los cultivos alimentarios mundiales, incluidos muchos alimentos básicos, se ven afectados por hongos productores de micotoxinas según las estimaciones de la FAO, así las pérdidas mundiales de productos alimenticios son debidas a las micotoxinas y son del orden de 1000 millones de toneladas al año (FAO, 2021).

A través de programas prioritarios entre otras iniciativas intersecretariales, se continúa apoyando para mejorar las condiciones de los pequeños y medianos productores de maíz y otros granos, con el fin de obtener mejores condiciones para el campo mexicano (Producción para el bienestar, Precios de garantía, Apoyo mediante Agroquímicos) (SADR, 2020).

El grano de maíz posee un complejo particular de bacterias, insectos y hongos que pueden causarle daños, entre ellos se encuentra el género fúngico *Aspergillus* y de éste las especies *A. flavus* y *A. parasiticus*, los cuales son los más importantes porque producen aflatoxinas que provocan gran variedad de efectos tóxicos en seres vivos expuestos al grano contaminado. Actualmente las regulaciones mexicanas establecen límites permisibles sólo para aflatoxinas en cereales y sus productos, excluyendo otras micotoxinas (Hadassa y Sanjuana, 2013). Las condiciones de producción de maíz (clima y malas prácticas) en México determinan la infestación y colonización del sustrato, así como el tipo y cantidad de las aflatoxinas producidas por hongos toxígenos (Hadassa y Sanjuana, 2013).

Las aflatoxinas son sustancias químicas cancerígenas que se consumen a diario en alimentos comunes como maíz, arroz, cacahuates, nueces, pistaches, chile, pollo, huevo, leche, embutidos y cerveza. Las tortillas y sus derivados (totopos, sopes, tamales entre otros) están contaminadas con estos metabolitos secundarios provenientes de las especies del *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. De acuerdo con Carbajal et al. (2011) en un estudio sobre “Cuantificación de aflatoxinas, sus metabolitos hidroxilados y aductos de AFB1-ADN en hepatocarcinomas humanos” y López (2018) el 95 % del maíz blanco y 60 % del amarillo los contienen. Por lo que se concluyó, que las aflatoxinas producidas por el moho de *A. flavus* “no se ven ni tienen sabor u olor, son resistentes al calor (soportan entre 260 y 320 °C sin descomponerse) y al proceso como cocción, ultra pasteurización, nixtamalización y fermentación”, es decir, lo que se ingiere es la principal causa de cáncer, con 36%; delante del consumo de tabaco, responsable en 31%; y las infecciones, con 11% (López, 2018).

El objetivo de esta investigación fue, obtener información reciente acerca de la presencia de hongos toxigénicos en muestras de maíz que se produce en el Oro Hidalgo, estado de México, además de actualizar la información referente a la producción de alimentos como el maíz enfocado a su origen en campo, normas de sanidad vigentes y con ello desarrollar metodologías que ayuden a la prevención en la producción, almacenamiento, transporte y comercialización para fines de salud del consumidor.

MARCO TEÓRICO

Origen y Distribución

El maíz (*Zea mays* L.) se originó en una parte restringida de México y los tipos más desarrollados emigraron posteriormente hacia otros sitios de América, hoy no existen dudas sobre el origen americano del maíz, pero nunca fue mencionado en ningún tratado antiguo hasta el descubrimiento de América por Cristóbal Colón, quien lo observó por primera vez en la Isla de Cuba en octubre de 1492 (Wilkes y Goodman, 1995).

El maíz surgió aproximadamente entre los años 8000 y 600 A.C, en Mesoamérica (México y Guatemala), probablemente a lo largo del acantilado occidental de México Central o del Sur a 500 km de la Ciudad de México (Acosta, 2019).

La época que dió lugar al maíz era de invierno -seco en alternancia con las lluvias de verano y en una geografía montañosa de cuevas empinadas y sobre roca caliza, las tres vistas ampliamente sostenidas acerca del origen del maíz explican que provino de: 1) Una forma de maíz silvestre, 2) Un teocintle silvestre y 3) Un antepasado desconocido (ni un maíz silvestre, ni teocintle (McClintock, et al., 1981). Cada teoría deduce su evidencia apoyándose en diferentes campos de investigación, desde la arqueología, análisis bioquímicos, isoenzimáticos y moleculares, así como citogenéticos, morfológicos y taxonómicos.

México y Contexto Mundial

En México, se registran 59 variedades criollas de maíz. En 2012 se publicó en el Diario Oficial de la Federación el acuerdo por el que se determinan centros de origen y centros de diversidad genética del maíz estableciendo como tal a los Estados de Baja California, Baja California Sur, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Sinaloa y Sonora. La Producción de maíz en 2017 fue de 27.8 millones de toneladas, mientras que la superficie sembrada en el mismo año fue de 7.5 millones

de hectáreas, gran parte del territorio nacional es propicio para la producción por lo que en los 32 Estados de la República Mexicana se produce maíz de grano (SADR, 2018).

Los principales Estados productores son Sinaloa (22%), Jalisco (14%), México(8%), Michoacán (7%), Guanajuato (6%), Guerrero (5%), Veracruz (5%), Chiapas (5%), Chihuahua (4%), Puebla (4%) y el resto de los Estados representan el (20%) restante (SADR, 2018).

México ocupa el 8° lugar en producción mundial de maíz, en 2017 exportó a 17 países, en términos de valor principalmente a Venezuela (58%), Kenia (33%)y Estados Unidos (4%), entre otros (6%) lo que nos ubica como el 10° exportador mundial de maíz grano (SADR, 2018).

Producción de maíz en el Estado de México

Gran parte del territorio nacional es propicio para la producción de maíz grano; en estados como Tamaulipas y Nuevo León, existen zonas con gran potencial de aprovechamiento. De las 7.76 millones de hectáreas de maíz grano sembradas en 2016, el 75.59% de la superficie se encuentra no mecanizada, 65.06% no cuenta con tecnología aplicada de sanidad vegetal, mientras que 30.16% del territorio sembrado con este cultivo contó con asistencia técnica. Por otro lado, 3.55% de la producción es por modalidad de riego de gravedad, 0.19% de riego por bombeo, 45.25% de otro tipo de riego y el resto es de temporal (SAGARPA, 2017).

El Estado de México cuenta con una variedad de microclimas, lo que le permite cultivar distintos productos agrícolas y varios de ellos ocupan el primer lugar en volumen de producción a nivel nacional, como lo es la producción de Tuna, Haba verde, Nopalitos y Triticale, entre otros como el aguacate, donde la entidad ocupa el tercer lugar en volumen de producción a nivel nacional; de igual manera se registran importantes volúmenes de producción de semillas básicas para la alimentación humana y ganadera, como lo es la producción de maíz, avena en grano, avena forrajera, papa y frijol (SIE, 2020).

Con la finalidad de contar con datos que permitan observar la evolución del volumen y valor de la producción anual de los productos agrícolas cultivados en el Estado de México, la subdirección de Análisis y Estadística de la Secretaría del Campo, integró las cifras que el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera que da particular atención a los diez principales cultivos que representaron poco más del 91.5% del volumen total de la producción agrícola en 2019, al sumar 6,865,088 toneladas. Por su parte el cultivo de maíz grano representó el 27.16% del volumen de la producción en ese mismo año y el maíz forrajero en verde, fue el segundo cultivo con una participación del 16% (SIE, 2020).

El maíz continúa ocupando el primer lugar en volumen de la producción del Estado de México, de tal suerte, que, si lo consideramos como un solo cultivo, la suma de las dos cifras anteriores representa el 43.16% del total de la producción (SIE, 2020).

En “Determinación de las regiones más competitivas de maíz en el Estado de México en función de la producción potencial” (Ramírez, et al.,2020), indica que las regiones con mayor producción de maíz blanco son Atlacomulco 36,33% (Distrito al que pertenece El Oro) y Toluca 25,69%; en el primer caso, la concentración se ha incrementado a 2008 en 30%, posiblemente derivado de un incremento en el uso de insumos tecnológicos, Zumpango y Texcoco evidencian los mayores déficits. En estos distritos se encuentran industrias harineras que demandan grandes cantidades del grano (Ramírez, 2020).

Pérdidas por problemas fúngicos

Autoridades del sector agrícola en México, señalan que en el país cada año se pierde entre el 20% y el 40% de la producción de alimentos debido a los insectos, las plagas o las enfermedades de los cultivos. En datos más específicos, los hongos llegan a causar pérdidas del 30% de la producción en nuestro país (Ramírez, 2020).

En México, la mayor proporción del maíz se cultiva en condiciones de temporal (60 %) (SIAP, 2014) que, en general, es deficiente y errático y que frecuentemente redundan en la coincidencia de estrés hídrico y altas temperaturas durante la fase fenológica reproductiva, lo que finalmente favorece la infección de *Aspergillus* en campo (Cotty y García, 2007).

México es considerado como el centro de origen y de diversidad del maíz, sin embargo, dicha diversidad no se ha analizado exhaustiva o consistentemente para identificar genotipos más tolerantes a la contaminación por aflatoxinas y su presencia dentro de algunas regiones del territorio, dado que el maíz es un alimento de importancia, es necesario el monitoreo de la calidad sanitaria en regiones de producción con el fin de contribuir con información que ayude a generar estrategias de prevención y control sanitario en relación a estos organismos desde el uso de semillas libres de patógenos durante cada una de las etapas del cultivo, hasta la cosecha, almacenamiento y preventa (Plasencia, 2004).

Clasificación Taxonómica (Kato, et al., 2009)

Reino: Plantae

Subdivisión: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Subclase: Commelinidae

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: Zea

Especie: Z. mays

Botánica del Cultivo

El maíz es una planta de metabolismo C4, que no presenta foto-respiración detectable, eficiente en la producción de biomasa superando ampliamente a otros cultivos como el girasol, la soja o el trigo (Garay y Colazo, 2015).

Es un cereal, una planta gramínea americana, que se caracteriza por tener tallos largos y macizos (y no huecos como sus parientes más cercanos) al final de los cuales se dan espigas o mazorcas (inflorescencias femeninas), con sus semillas o granos de maíz dispuestos a lo largo de su eje (Garay y Colazo, 2015).

Generalidades del Cultivo (Requerimientos)

El maíz requiere una temperatura de 25 a 30 °C, bastante incidencia de luz solar y en aquellos climas húmedos su rendimiento es más bajo. Para que se produzca la germinación de la semilla, la temperatura debe situarse entre los 15 a 20 °C, el maíz llega a soportar temperaturas mínimas de hasta 8 °C y a partir de los 30 °C pueden aparecer problemas serios debido a mala absorción de nutrientes minerales y agua. Para la fructificación se requieren temperaturas de 20 a 32 °C (Garay y Colazo, 2015). El maíz es un cultivo exigente en agua en el orden de unos 5 mm al día, se adapta muy bien a todos tipos de suelo, pero suelos con pH entre 6 a 7 son a los que mejor se adaptan, también requieren suelos profundos, ricos en materia orgánica, con buena circulación del drenaje para no producir encharques, los cuales dan origen a asfixia radicular, finalmente, el riego más empleado últimamente es el riego por aspersión (Garay y Colazo, 2015).

Hongos

Desde un punto de vista fitopatológico, el maíz es susceptible a diversas enfermedades causadas por hongos (Agrios, 1985) (citado por Aguilar, et al., 2018), indica que los hongos son organismos eucarióticos tanto microscópicos como macroscópicos que carecen de clorofila y poseen paredes celulares que contienen quitina, celulosa, o ambos, son productores de esporas, que se reproducen a través

de hifas o esporas. Los hongos provocan enfermedades en el hombre y animales, más de las 8 000 especies atacan a plantas. Sin embargo, existen hongos que viven simbióticamente con la mayoría de las plantas. Ellos les aportan beneficios, por ejemplo, les facilita la toma de nutrientes de baja disponibilidad o de poca movilidad en el suelo, antagónicamente existen algunos hongos que pueden ser perjudiciales para otros organismos como los insectos, nematodos, protozoarios, hongos, así como para el ser humano (Barrer, 2009).

Aflatoxinas

Las aflatoxinas son sustancias químicas altamente tóxicas, resultantes del metabolismo de algunas cepas de *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* y de las especies relacionadas, *A. nomius* y *A. niger*, existen cuatro aflatoxinas importantes: B1, B2, G1, G2 y los productos metabólicos adicionales, M1 y M2. Las aflatoxinas M1 y M2 fueron aisladas de la leche de animales alimentados con piensos contaminados; la designación con la letra M, proviene de Milk, mientras que la designación de B, de las aflatoxinas B1 y B2 proviene de la fluorescencia azul (Blue) bajo exposición a la luz-UV, la designación de G se refiere a la fluorescencia de color verde amarillo (Green) de las estructuras relevantes bajo luz - UV. Estas toxinas tienen estructuras similares y forman un grupo único de compuestos heterocíclicos altamente oxigenados naturales (Cornejo y Oriolis, 2012).

Las aflatoxinas se han asociado a varias enfermedades, tales como aflatoxicosis en ganado, animales domésticos y seres humanos, han recibido más atención que cualquier otra micotoxicosis debido a su potente efecto carcinógeno demostrado en animales de laboratorio susceptibles y sus efectos toxicológicos agudos en seres humanos (Cornejo y Oriolis, 2012).

Aspergillus parasiticus

Aspergillus es uno de los géneros de hongos más conocidos y estudiados por su abundancia y la facilidad con la que pueden cultivarse en condiciones de laboratorio. Gran número de especies de *Aspergillus* tienen una importancia económica que va desde efectos nocivos hasta beneficiosos. Sus efectos benéficos implican su uso en la producción industrial de enzimas, moléculas terapéuticas como lovastatina, etc., y sus efectos nocivos incluyen que sean agentes causantes de enfermedades (aspergilosis, reacciones alérgicas, etc.) (Arrúa, 2009).

En semillas de maíz, las colonias fúngicas son por lo general de color verde claro, verde amarillento claro, verde intenso, café oliváceo o café. Las semillas de maíz

severamente afectadas son incoloras y arrugadas (Moreno, 2004). En medio de cultivo, el color de la colonia varía de verde amarillento a verde oliváceo, micelio blanco, esclerocios marrones obscuro a negros, reverso incoloro, marrón claro o naranja, textura de la colonia lanosa o flocosa (Arrúa, 2009).

Las colonias de *A. parasiticus* por lo general son verde más intenso, menciona que a pesar de que estos patógenos se consideran principalmente hongos de almacenamiento, las infecciones pueden iniciarse a nivel de campo (Moreno, 2004). El inóculo primario proviene de propágulos en el suelo, micelio que inverna en residuos vegetales, esclerocios, basura sobre el suelo e insectos (Arrúa, 2009).

Aspergillus flavus

En 1729 el género *Aspergillus* fue catalogado por primera vez por el biólogo italiano Pier Antonio Micheli. Micheli usó el nombre *Aspergillum* por parecerse el hongo al instrumento usado para dispersar agua bendita. La descripción hecha por Micheli de este género de hongo en su obra "*Nova Plantarum Genera*" tiene importancia histórica, al ser reconocido como el punto inicial de la ciencia de la micología (Caballero, 2005).

Aspergillus es un género de alrededor de 200 hongos, es ubicuo, los hongos se pueden clasificar en dos formas morfológicas básicas: las levaduras y los hifales, el género *Aspergillus* es un hongo hifal filamentoso (compuesto de cadenas de células, llamadas hifas tabicadas), el tipo de hongos opuesto son las levaduras, estas últimas son unicelulares, al estar compuestas de una sola célula redondeada (Caballero, 2005).

El hábitat natural del género *Aspergillus* son el heno y el compostaje, la infección por *Aspergillus* no es la más frecuente en los hospitales, pero suele ser una de las más graves porque no consta de un tratamiento eficaz, se calcula que más del 80% de los pacientes hospitalizados que contraen este hongo, fallecen, es relativamente frecuente confundir una infección por *Aspergillus* con las más comunes infecciones bacterianas, así como puede haber una infección simultánea por ambos microorganismos (Caballero, 2005).

Normatividad

Ley de Sanidad Vegetal

Esta ley es de observancia general en todo el territorio nacional y tiene por objeto regular y promover, la sanidad vegetal, así como la aplicación, verificación y certificación de los sistemas de reducción de riesgos de contaminación física, química y microbiológica en la producción primaria de vegetales.

Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-188-SSA1-2000, bienes y servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias.

Esta Norma Oficial Mexicana establece los límites máximos permisibles de aflatoxinas en los cereales destinados para el consumo humano y animal, así como las especificaciones sanitarias para controlar la concentración de estastoxinas en aquéllos destinados para consumo humano.

Seguridad Alimentaria (Buenas Prácticas)

Las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) son un conjunto de medidas higiénico-sanitarias mínimas que se realizan en el sitio de producción primaria de vegetales, para asegurar que minimiza la posibilidad de contaminación física, química y biológica de un vegetal o producto fresco (Ley Federal De Sanidad Vegetal, 1994).

Las BPA incluyen métodos que garanticen una excelente producción, por ello se debe saber, cómo preparar el suelo, cómo manejar el cultivo, cómo usar el agua y el riego, cómo utilizar, guardar y desechar los agroquímicos, qué fertilizantes a emplear, así como tener un proceso adecuado de cosecha, selección, empaque, almacenamiento y transporte de los productos agrícola, desarrolladas y aplicadas para asegurar su buena condición sanitaria, mediante la reducción de los peligros de contaminación biológica, química y física (SENASICA, 2017).

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la incidencia de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* en el cultivo de maíz (*Zea mays*) en el municipio El Oro, Estado de México.

Objetivos Particulares

Caracterizar morfológicamente cepas de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* provenientes de maíces sembrados en El Oro, Estado de México.

Verificar la inocuidad de las muestras obtenidas de maíz (*Zea mays*) con base en la normatividad vigente con los límites máximos permisibles.

METODOLOGÍA

Sitio de estudio

Para la realización de este proyecto de investigación, se recurrió a cinco localidades aledañas, El Oro, Tapasco, Sta. Rosa, Tultenango y el Mogote, sentados en la porción noreste del Estado de México, sus coordenadas geográficas extremas son: al norte 19° 51' 34'', al sur 19° 43' 43'', al este 99° 58' 54'' y al oeste 100° 08' 49''.

Forma parte de la Sierra Madre Occidental, que se extiende desde Tlalpujahua y tiene una prolongación hasta Temascalcingo y Atlacomulco, por lo cual su relieve es accidentado, y presenta alturas que van desde los 2, 500 msnm hasta los 3, 200 msnm (Cita).

El clima que es subhúmedo, cuenta con una temperatura promedio entre 12°C y 16°C; de acuerdo con la Comisión Nacional del Agua (CNA), Templado con lluvias en verano con una precipitación anual de 851 a 1,050 mm, el mes de julio es el más lluvioso, la temperatura media anual va de 12°C con nevadas regulares en octubre y noviembre, de forma en que se puede desarrollar cultivos como: maíz, trigo y avena, entre otros (Plan Municipal de Desarrollo de El Oro, 2003-2006) y Semifrío - Subhúmedo con lluvias en verano, donde oscila entre 8° y 12°C. la temperatura media anual y de 1,000 y 1,200 mm la precipitación total anual(Figura 1).



Figura 1. Mapa del municipio de El Oro, Estado de México, México y sus comunidades aledañas (Google Maps,2023).

Método de muestreo

Se seleccionaron cinco lugares en comunidades aledañas (Tapasco, El Oro, Sta. Rosa, Tultenango, El Mogote) que contaran con producción de maíz ya establecido (Figura 2) con el fin de identificar los almacenes de cada lugar para poder realizar la selección y toma de muestras contaminadas, que mostrasen signos similares a los causados por el género *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*.

Se aplicó un método de muestreo completamente al azar de dos muestras por lugar, en laboratorio se formó una muestra compuesta para su posterior aislamiento y determinación (Figura 3).



Figura 2. Área en donde se llevó a cabo la recolecta de muestras de maíz para la determinación del género *Aspergillus*.



Figura 3. Muestras de maíz colectadas de las comunidades (1) Tapasco (2) El Oro (3) Sta. Rosa (4) Tultenango (5) EIMogote.

Método de colecta

Con base en la “Guía práctica para el diagnóstico de microorganismos de interés agrícola” (Montiel et al., 2016). Se distinguieron y seleccionaron muestras de maíz con muestras de contaminación las cuales eran resguardadas en almacenes (algunos rudimentarios) de cada zona (Figura 4).



Figura 4. Almacenes seleccionados para la recolecta de las muestras contaminadas de maíz.

Las muestras se envolvieron con papel absorbente húmedo y colocaron dentro de bolsas de plástico para evitar perder la humedad y condición de la muestra vegetal. Finalmente, las bolsas se rotularon con el sitio de la colecta, coordenadas, número de muestra, temperatura y humedad registradas en cada sitio para su posterior análisis en laboratorio (Figura 5).



Figura 5: Muestras de maíz recolectadas y rotuladas para su análisis en laboratorio.

Preparación de medios de cultivo agar papa dextrosa (PDA) deshidratado.

Se preparó primeramente el medio de cultivo y después se acondicionaron 60 cajas Petri con el medio. La “Guía práctica para el diagnóstico de microorganismos de interés agrícola” (Montiel, 2016), sugiere que en 1000 mL de agua destilada se agregaran 39 g del medio de cultivo deshidratado y se disolvieran, posteriormente se calentó a 60°C, se dejó enfriar antes de depositarlo en las cajas Petri. El material fue esterilizado dentro de la autoclave a 121°C por 15 minutos antes de ser utilizado.

La elaboración de los medios se realizó en dos partes de 30 cajas por lo que se utilizaron 600 mL de agua destilada por los 39 g, como resultado se utilizaron 23.4 g en cada proceso, manteniendo la metodología de esterilización en los medios de cultivo (Figura 6). **FALTA LEYENDA A LA FIGURA SEIS QUE ES LA SIGUIENTE**



Preparación de las muestras para su cultivo

El inoculo se preparó en cuarenta cajas mediante dos procesos:

En la primera etapa, se agregaron 9 mL de la solución peptonada, como diluyente y precursor del crecimiento de microorganismos en cinco tubos de ensayo destinados para cada una de las muestras, anticipadamente en cada una de las muestras de maíz que aún se encontraban dentro de las bolsas ziploc, fueron decantados 90 mL de la misma solución, se agitaron suavemente por un lapso de 1 minuto cada bolsa, a continuación se tomó 1 mL para depositarlo en cada uno de los tubos de ensayo con 9 mL de la solución, destinados para cada muestra y finalmente sembrar una alícuota de 0.1 mL de cada uno de ellos en las cajas Petri respectivas conteniendo el medio de PDA. En cada una de las muestras se tuvo entonces en una proporción de 1×10^{-2} por el nivel de concentración de la muestra de 1 mL complementado a 9 mL. de solución.

En la segunda etapa, se utilizaron 90 mL de solución peptonada como diluyente, en este caso los 90 mL de la solución se decantaron dentro de cada una de las bolsas que contenían las muestras, se tomó 0.1 mL directamente de las bolsas para realizar la siembra en el medio PDA contenidos en las cajas Petri. En cada una de las muestras se tuvo entonces una proporción de 1×10^{-1} por el nivel de concentración de la muestra, finalmente los cultivos se colocaron dentro de una incubadora a una temperatura de 28°C. Cada muestra se hizo por duplicado (Cuadro 1).

Por último, los cultivos fueron introducidos a una incubadora a una temperatura de 26°C - 28°C. El proceso para cada muestra se hizo por duplicado (Figura 7).

Cuadro 1. Muestra original y sus repeticiones complementarias para determinar la presencia de *Aspergillus flavus* y *parasiticus*, el proceso se realizó dos veces (40 cajas).

| 1) Tapasco | 2) El Oro | 3) Sta.Rosa | 4) Tultenango | 5) El Mogote |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 |
| REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 |
| Segundo Proceso | Segundo Proceso | Segundo Proceso | Segundo Proceso | Segundo Proceso |
| REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 |
| REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 |

| 1) Tapasco | 2) El Oro | 3) Sta.Rosa | 4) Tultenango | 5) El Mogote |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 |
| REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 |
| Segundo Proceso | Segundo Proceso | Segundo Proceso | Segundo Proceso | Segundo Proceso |
| REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 | REPETICIÓN -1 |
| REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 | REPETICIÓN -2 |

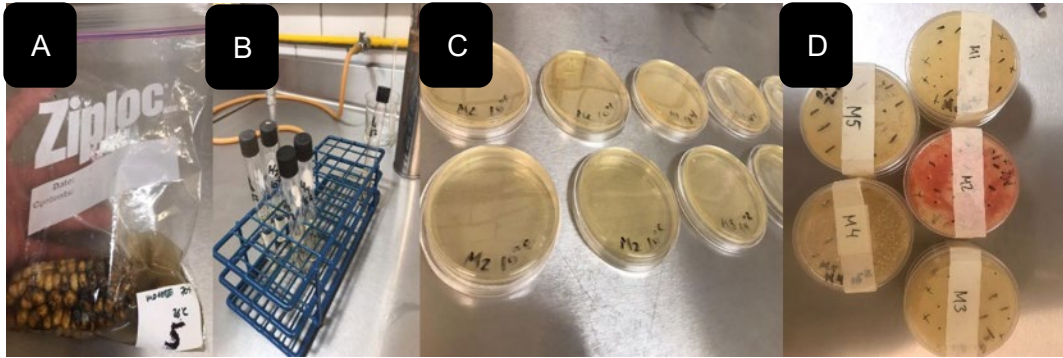


Figura 7. Proceso de inoculación dentro de las cajas Petri: A) Dilución con 9 ml de solución peptonada en cada muestra representativa de cada lugar de muestreo B) Tubos de ensayo para complementar la primera dilución C) Siembra con una alícuota de 1mL en cada caja proveniente de cada muestra representativa (-1 y -2) D) crecimiento de colonias fúngicas.

Conteo de colonias fúngicas

Para el conteo de colonias fúngicas se determinó un tiempo de incubación de 24, 48 y 72 horas respectivamente para cada muestra por duplicado. Cada una de las muestras fueron marcadas cada día para identificar las colonias nuevas y representadas en cuadros de conteo (Figura 8).

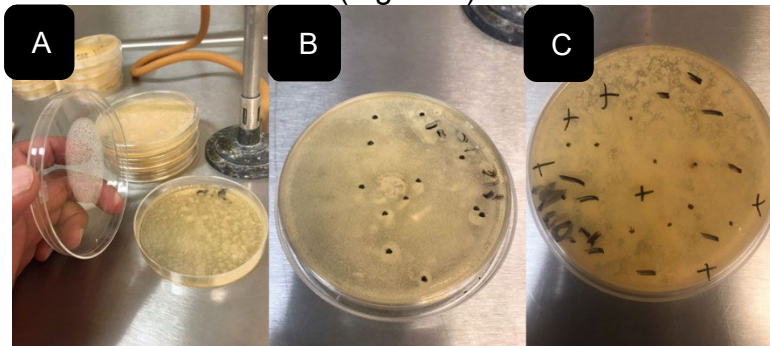


Figura 8. A) Crecimiento de colonias fúngicas B) Señalización de colonias C) Conteos de 24h, 48h y 72h.

Aislamiento de colonias fúngicas

Para la purificación de las colonias fúngicas que crecieron en los medio de cultivo, se hizo utilizando dos mecheros, diez cajas Petri se colocaron en medio de ambos mecheros previamente encendidos para esterilizar el ambiente y con ayudade asas bacteriológicas, las colonias se transfirieron a nuevos medio de cultivo, a estos se les denominó A1- a2 y B1 – b2, las primeras colonias aisladas se pueden observar en la figura 9 las cuales se denominaron A1 y B1, de igual forma se les realizó un conteo cada 24, 48 y 72 horas (Figura 10), posteriormente se realizó un segundo aislamiento a partir de estas denominadas a2 y b2 para confirmar y su conteo después de tiempo de incubación 24, 48 y 72 horas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Representación del aislamiento fúngico en el que se aislaron dos muestras representativas denominadas A1-B1 y su comprobación a1 y b1.

| 1) Tapasco | 2) El Oro | 3) Sta. Rosa | 4) Tultenango | 5) Tapasco |
|------------|-----------|--------------|---------------|------------|
| A1 | A1 | A1 | A1 | A1 |
| B1 | B1 | B1 | B1 | B1 |
| a1 | a1 | a1 | a1 | a1 |
| b1 | b1 | b1 | b1 | b1 |

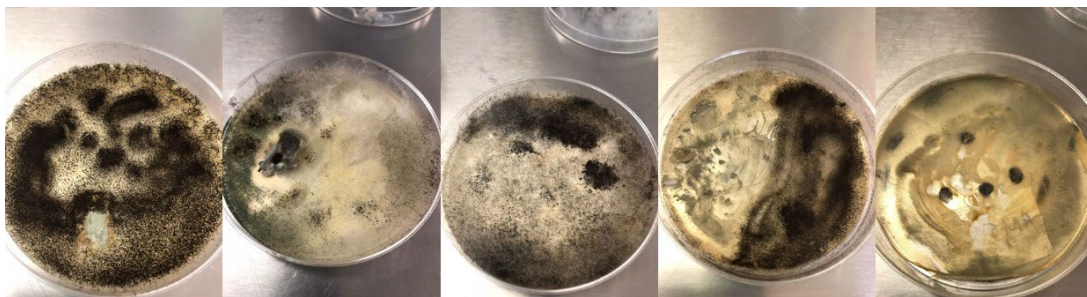


Figura 9. Primer aislamiento A1-B1 en el que se observan diferentes cuerpos micelares aéreos.



Figura 10. Segundo aislamiento a partir de A1 y B1 etiquetado como a1-b1 en el que se observa un crecimiento más uniforme y delimitado.

Identificación

La identificación de los hongos filamentosos se basó en el examen macroscópico de la colonia y en sus características macroscópicas como la forma de la colonia, el color de la superficie, la textura y la producción de pigmentos (tinción), con la ayuda de un microscopio, porta objetos y lactofenol azul de algodón (Figura 11). Se realizó la tinción de cada una de las cepas desarrolladas para determinar las características de los hongos, se colocó una gota de lactofenol azul de algodón y se tomó lamuestra fúngica con una cinta Diurex, la cual se pegó a manera de cubreobjetos sobre un portaobjeto previamente etiquetado y se dispuso en el microscopio para su observación (Figura 11).

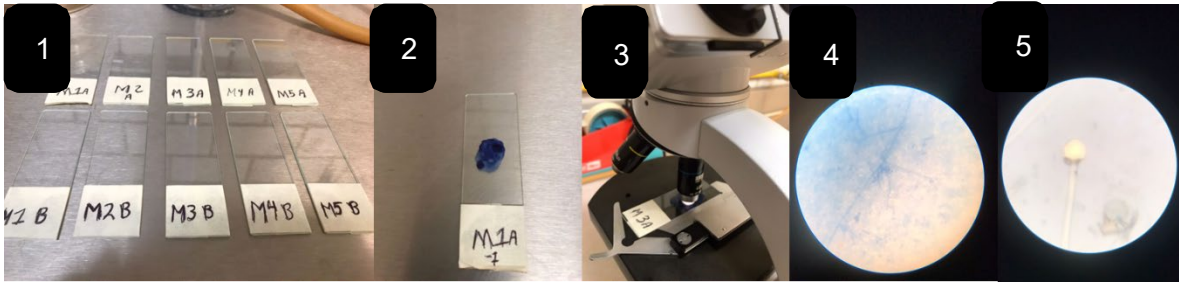


Figura 11: 1) Preparación de las muestras 2) Tinción con lactofenol azul de algodón 3) Observación en microscopio 4) Identificación 5) Selección con base a las características morfológicas.

Fluorescencia

De acuerdo a lo propuesto por Cornejo y Oriolis en 2012, las características de los organismos fueron determinadas mediante la exposición de todas las muestras a luz ultravioleta (UV), lo que se busca en las muestras es una emisión de refracción azul en las mismas (ver figura 12).

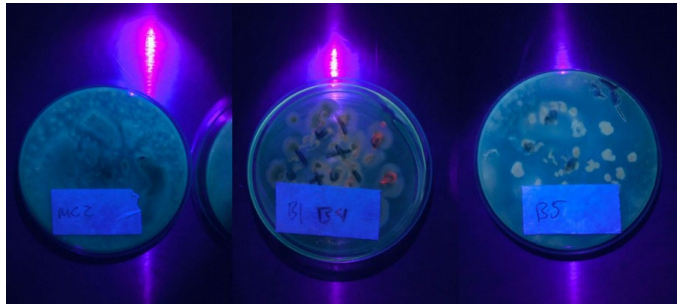


Figura 12. Determinación e identificación de *Aspergillus* proveniente de las muestras aisladas El Oro. Tultenango y El Mogote, expuestas a luz UV.

OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS

- Se determinó la presencia de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* en cultivo de maíz (*Zea mays*) que puede representar un riesgo en los cultivos y consumo humano en la región de El Oro, Estado de México.
- Con este estudio se sentaron las bases para generar información sobre la presencia *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* en cultivo de maíz (*Zea mays*), y posteriormente, proponer posibles soluciones que permitan combatir esta problemática en la región, en las regiones colindantes a la región de El Oro, Estado de México y en el centro del país.

¿ACTIVIDADES REALIZADAS?

- 1.- Toma de muestras en la región de El Oro, Estado de México.
- 2.- Se cultivaron en diferentes medios las muestras para determinar la presencia de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* en muestras de maíz.
- 3.- se identificó la presencia de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* en los medios cultivados.
- 4.- Se caracterizaron morfológicamente las sepas de los hongos que crecieron en los medios para confirmar que se trataba de *A. flavus* y *A. parasiticus*.

RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Identificación de los géneros *Aspergillus flavus* y *parasiticus*

Aspergillus es un ejemplo de lo que denominamos "patógeno oportunista", es decir que suele afectar a pacientes con sistemas inmunológicos deprimidos o comprometidos. Entre los factores de patogenicidad de este hongo se encuentran: el pequeño tamaño de sus conidias que permite que sean aspiradas y que pueda causar infección en el pulmón y en los senos paranasales. Su capacidad para desarrollarse a una temperatura de 37 °C, su capacidad para adherirse a superficies epiteliales y posiblemente endoteliales, su capacidad para invadir los vasos sanguíneos y la producción de productos extracelulares tóxicos para las células de los mamíferos (elastasa, restrictocina, fumigatoxina, etc.) lo vuelen un hongo patógeno para la especie humana (Alcalá et al., 2015).

Actualmente, se ha documentado que se conocen unas 900 especies de *Aspergillus*, que Rapper y Fennell clasifican en 18 grupos, de los que sólo 12 se relacionan con enfermedad humana: *Aspergillus fumigatus* (85%), ***A. flavus*** (5-

10%), *A. niger* (2-3%), *A. terreus* (2-3%), *A. versicolor*, *A. nidulans*, *A. glaucus*, *A. clavatus*, *A. cervinus*, *A. candidus*, *A. flavipes* y *A. ustus* (Alcalá et al., 2015).

Esta clasificación se basa en las siguientes características morfológicas del hongo: tamaño y forma de las cabezas conidiales, morfología de los conidióforos, presencia de fiálides y métulas, y en la presencia de células de Hülle y de esclerocios (Figura 13, 14 y 15). En la siguiente figura se muestran las principales estructuras morfológicas del género *Aspergillus*:

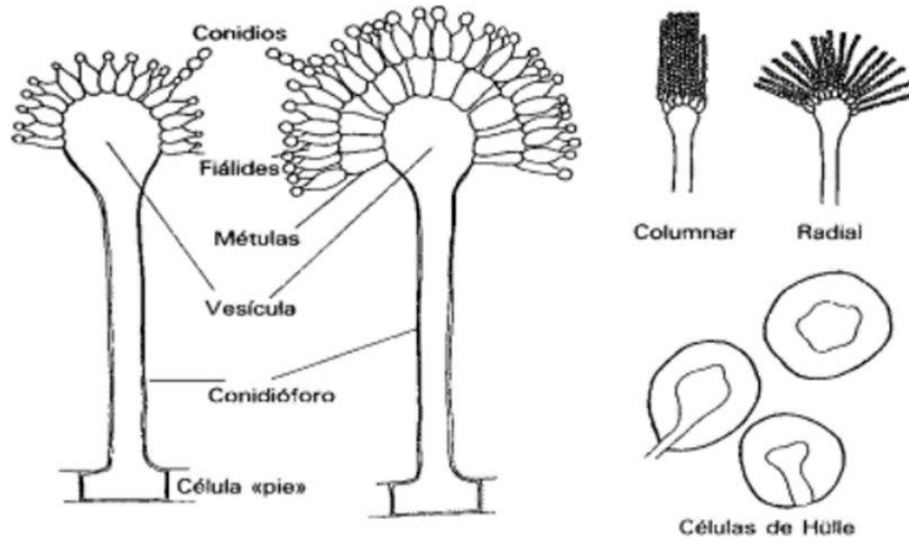


Figura 13: Morfología del género *Aspergillus flavus* (Alcalá et al., 2015).

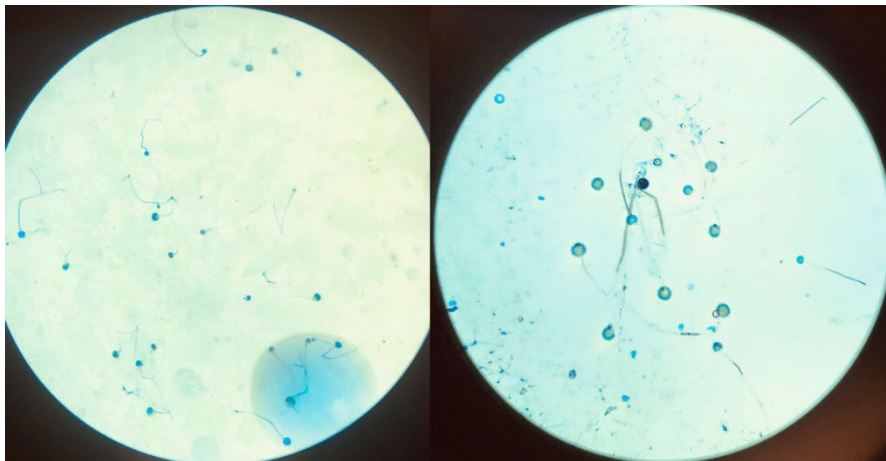


Figura 14: Identificación de colonias del género *Aspergillus flavus*.

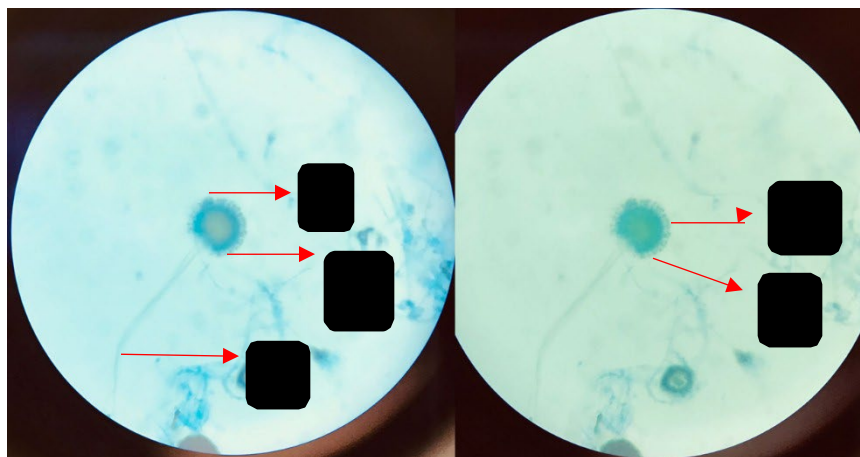


Figura 15: Determinación del género *Aspergillus flavus* con base en las características morfológicas: 1) Conidios 2) Fiálides 3) Métulas 4) Vesícula y 5) Conidióforo.

El género *Aspergillus flavus* fue identificado en cuatro de las cinco muestras, por lo que fue el de mayor incidencia en las muestras recolectadas en los diferentes almacenes ubicados en las comunidades de El Oro (2), Sta. Rosa (3), Tultenango (4) y El Mogote (5). El género *A. parasiticus* no se identificó en ninguna de las muestras analizadas.

Género de *A. flavus* presente en cada muestra de maíz

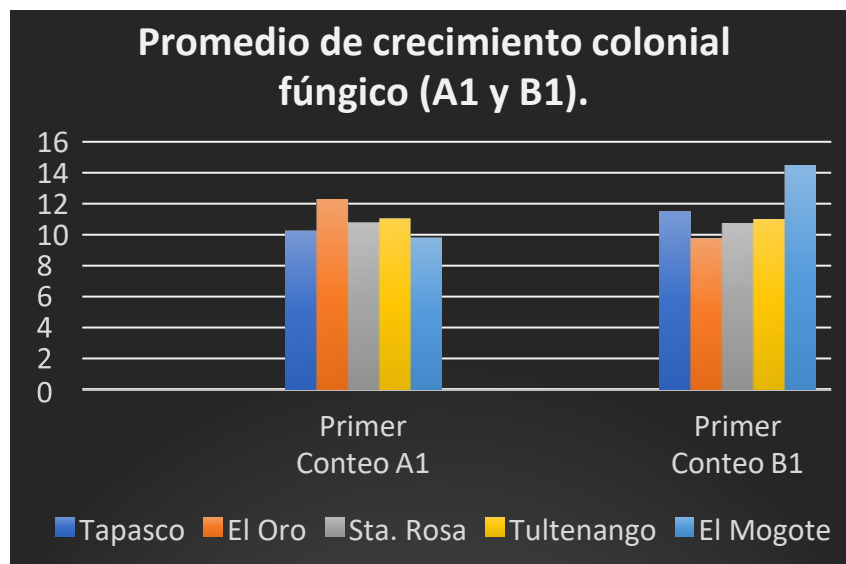
Presencia de *A. flavus* en cuatro de las cinco localidades: El Oro, Tultenango, Sta. Rosa y El Mogote. de agave (Cuadro 3).

Cuadro 3. Presencia de *A. flavus* en las comunidades de 2) El Oro, 3) Sta. Rosa, 4) Tultenango y 5) El Mogote.

| Aspergillus | Tapasco | El Oro | Sta. Rosa | Tultenango | El Mogote |
|----------------|---------|--------|-----------|------------|-----------|
| A. Flavus | - | + | + | + | + |
| A. parasiticus | - | - | - | - | - |

Representación del conteo de colonias fúngicas correspondientes a la primera siembra A1 y B1.

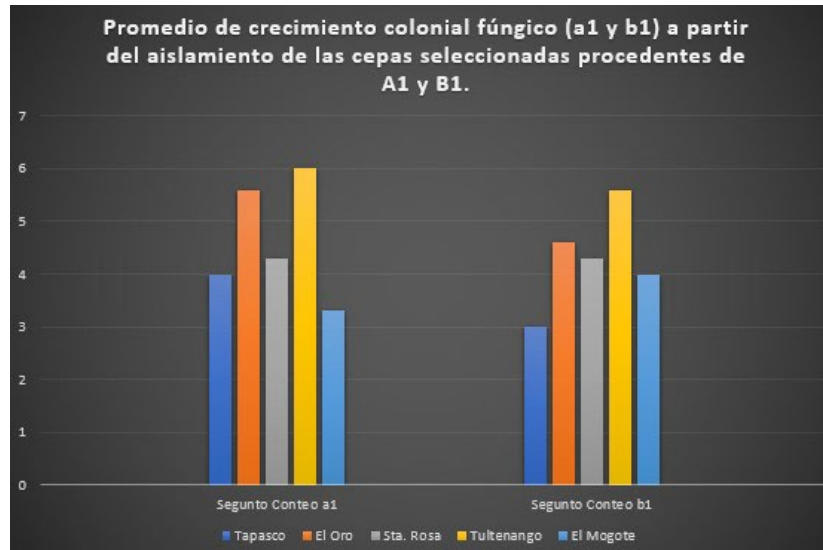
El conteo a partir de la primera siembra correspondiente a A1 y B1 de varios géneros de colonias fúngicas, mostró un crecimiento exponencial para su posterior aislamiento (10 y 11 colonias fúngicas en promedio por muestra), la metodología con solución peptonada fue un factor determinante para el desarrollo de colonias fúngicas, ya que como diluyó su potencial, permitió el crecimiento de estos microorganismos (Gráfica1).



Gráfica 1. Representación gráfica del conteo en promedio de colonias fúngicas 24. 48 y 72 horas.

Representación del conteo de colonias fúngicas correspondientes al aislamiento a partir A1 y B1 denominada a1 y b1.

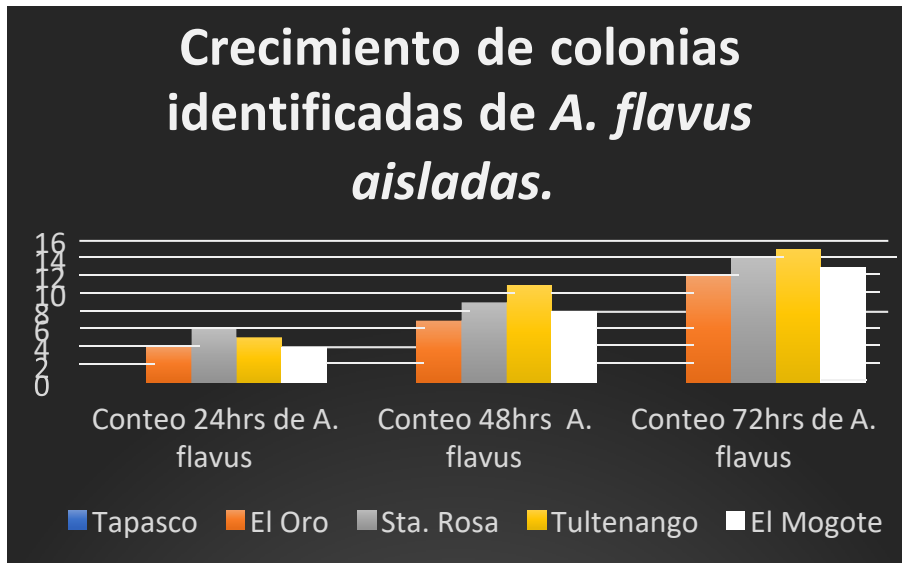
El conteo a partir de la segunda siembra proveniente de A1 y B1 de varios géneros de colonias fúngicas, arrojó un promedio de crecimiento de entre tres y seis colonias en promedio por muestra, las colonias posteriormente pasaron por el proceso de tinción para ser identificadas (Gráfica 2).



Gráfica 2. Conteo promedio de colonias fúngicas a partir del aislamiento de las cepas seleccionadas de A1 y B1 denominadas a1 y b1 antes de su identificación.

Representación gráfica del conteo de colonias fúngicas a partir de la identificación de *Aspergillus flavus*.

A partir de la identificación, las colonias de *A. flavus* fueron reproducidas en medios específicos, las colonias aisladas tuvieron un promedio de crecimiento de entre nueve y trece colonias en promedio por muestra en diferentes tiempos de incubación a 24, 48 y 72 horas (Figura 16), cabe resaltar que existió el crecimiento de bacterias y otros microorganismos en los medios de cultivo, en las muestras A1 y B1, impidieron obtener resultados a partir del conteo proveniente de la muestra original, el conteo en el aislamiento específico, no es un dato real para compararlo con los límites permisibles como lo establece la Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-188-SSA1-2000, bienes y servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias. Pero si es un factor determinante para sostener la presencia de este organismo y exponer datos sobre el riesgo que representa su consumo.



Gráfica 3. Representación gráfica del crecimiento exponencial de colonias aisladas previamente identificadas de *A. flavus*, la comunidad de Tapasco no presentó incidencia.

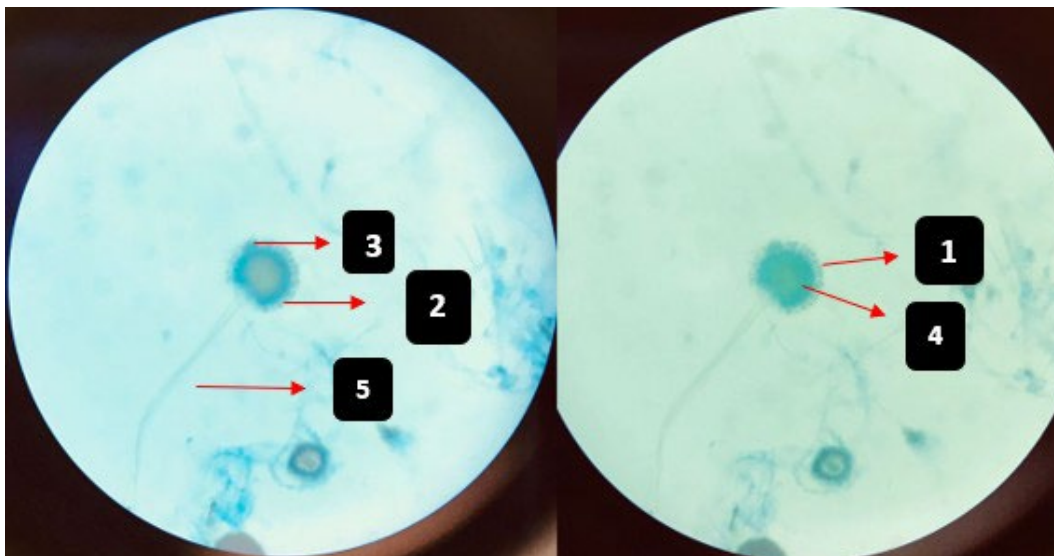


Figura 16. Determinación del género *Aspergillus flavus* con base en las características morfológicas: 1) Conidios 2) Fiálides 3) Métulas 4) Vesícula y 5) Conidióforo.

Con base en los resultados obtenidos, las muestras que se tomaron en las localidades de El Oro, Sta. Rosa, Tultenango y El Mogote fueron positivas a la presencia *A. flavus*.

La presencia y crecimiento de otros microorganismos como bacterias y hongos fitopatógenos ajenos a la identificación de *A. flavus* en los medios de cultivo impidieron un desarrollo óptimo de las colonias fúngicas en el primer proceso de siembra, sin embargo, en los procesos de aislamiento se observó un mejor desarrollo de *A. flavus* en el proceso correspondiente en cuatro de las cinco localidades (Otero, 2014).

CONCLUSIONES

- En cuatro de las cinco muestras correspondientes a las localidades de El Oro, Sta.Rosa, Tultenango y El Mogote hubo presencia de *A. flavus*.
- De las cuatro muestras, tres de ellas presentaron una mayor propagación de *A. flavus*, las muestras corresponden a las localidades de El Oro, Tultenango y El Mogote. estas muestras mostraron un mayor número de colonias en las muestras primarias a partir de A1 y B1.
- Las muestras corresponden a las localidades de El Oro, Tultenango y El Mogote. estas muestras mostraron un mayor número de colonias en las muestras primarias a partir de A1 y B1.
- Durante los cuatro meses que duró el muestreo, en ninguna muestra se detectó la presencia de *Aspergillus parasiticus*.

SUGERENCIAS

Se deben unificar criterios en materia de construcción e implementación de normas enfocadas a calidad y sanidad vegetal en la producción y comercialización de alimentos en zonas vulnerables que coadyuven a la detección, prevención y control oportunos de microorganismos, plagas y malezas, que a través de la interacción humana y las diversas formas de contaminación cruzada pueden poner en riesgo los niveles producción de alimentos y la salud pública.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, D., De Aquino, H. N. E., Martínez, B., Palma, L. O. y Pérez, N. E. G. 2018. Presencia de hongos micorrízicos y su asociación con diferentes variedades de agave en Puebla. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, CDMX, México.
- Agrios, G.N. 1985. Fitopatología. Enfermedades causadas por hongos. CDMX, México.
- Alcalá, L. Muñoz, P. Peláez, T. y Bouza, E. 2015. Aspergillus y Aspergilosis. Servicio de Microbiología Clínica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. España. Madrid.
- Arrúa, A. 2009. Caracterización morfológica y toxigénica de cepas de *Aspergillus Parasiticus speare*, aisladas de grano de maíz proveniente de 14 Estados de la República Mexicana. Universidad Autónoma Agraria. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Acosta, R. 2009. El cultivo de maíz, su origen y clasificación, El maíz en Cuba, cultivos tropicales. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba.
- Barrer, S. 2009. El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. 06 de julio de 2021. Scielo. Colombia. Sitio web: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v7n1/v7n1a14.pdf>
- Bembibre, C. 2017. Importancia del Maíz. 06 de julio de 2021. De importancia.ORG. Sitio web: <https://www.importancia.org/maiz.php>

Caballero J. 2005. Desarrollo de un nuevo modelo de aspergilosis pulmonar en rata: consideraciones previas, estudio comparativo y aplicaciones al diagnóstico de la enfermedad, Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Veterinaria. Departamento de Sanidad Animal. Madrid, España.

Carvajal, M., Dávila, A., D., Vizcaíno, V., Aristi-Urista, A. Díaz-Zaragoza, M., y Méndez, I. 2011. Cuantificación de aflatoxinas, sus metabolitos hidroxilados y aductos de AFB1-ADN en hepatocarcinomas humanos. Asociación Mexicana de Patólogos, A. C. Campeche, México.

Carrillo, L. y Audisio, M.C. 2007. Manual de Microbiología de los Alimentos. Asociación Cooperadora de la Facultad de Ciencias Agrarias. San Salvador, El Salvador.

Cornejo C., Oriolis, V. G. 2012. Antecedentes generales sobre las aflatoxinas y otras micotoxinas y elementos a tener en cuenta para el diseño de prácticas correctas de cultivo y elaboración de nueces. División de Políticas Públicas Saludables y Promoción Departamento de Alimentos y Nutrición. Chile.

Cotty, P.J., y García J.R. 2007. Influences of climate on aflatoxin producing fungi and aflatoxin contamination. International Journal of Food Microbiology

FAO. (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2021. Micotoxinas. 4 de agosto de 2021, de FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) Sitio web: <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/a-z-index/mycotoxins/es/>

Garay, A., Colazo, C. J. J. 2015. El cultivo de maíz en San Luis. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina.

Gelderen, V. C., Chuzle, S. y Bartosik, R. 2018. Proyecto de micotoxinas en maíz: Estrategias para minimizar el problema en la cadena alimentaria. RSA – CONICET (Red de Seguridad Alimentaria del CONICE. Argentina.

Hadassa, Y. M. P., Sanjuana, H. D. 2013. El Género *Aspergillus* y sus Micotoxinas en Maíz en México: Problemática y Perspectivas. Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), CDMX, México.

Herrera R. A., González T. 2005. Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. Unidad Sureste del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño. Jalisco, Guadalajara, México.

McClintock, B., Kato, T., Blumenschein, A. 1981. Constitución cromosómica de las razas de maíz. Colegio de Postgraduados de Chapingo. Estado de México, México.

Montiel, S. D., Ruiz, J. D., Olivares, O. J., Segundo, P. E. 2016. Guía práctica para el diagnóstico de microorganismos de interés agrícola, Universidad Autónoma Metropolitana. CDMX, México.

Moreno, J. 2004. Estudio comparativo de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* en la producción de aflatoxinas bajo diferentes condiciones de humedad y temperatura. UNAM. Facultad de Estudios Superiores de Postgrado. Cuautitlán Izcali, Estado de México, México.

Otero, A. J. 2014. Curso de cultivos celulares avanzados. Instituto de Desarrollo Ganadero y Sanidad Animal INDEGSAL/Dep. C.C. Biomédicas Universidad de León. España.

Plasencia J. 2004. Aflatoxins in maize: a Mexican perspective. *Journal of Toxicology*. 12 de septiembre de 2022. Sitio web: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1081/TXR-200027809>

SADR. (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural). 2021. Norma Oficial Mexicana. PROY-NOM-188-SSA1-2000 Bienes y servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias. 2021. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México.

Kato, T.A., Mapes, L.M., Mera, J.A., Serratos, R.A. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. CDMX, México.

Ley Federal de Sanidad Vegetal. 08 de Julio de 2021. Diario Oficial de la Federación por el que se reforman, adicionan y derogan diversas disposiciones de Sanidad Vegetal. 1994. México Sitio web: <https://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LFSV.pdf>

López, P. 2018. Consumo diario de aflatoxinas. 08 de Julio de 2021, de Universidad Nacional Autónoma de México Sitio web: <https://www.gaceta.unam.mx/consumo-diario-de-aflatoxinas/>

Ramírez, J. R., García, S. A. J., García, M. R., Garza, B. E. L., Miguel J. Escalona, M., y Vásquez, P.M. 2020. Determinación de las regiones más competitivas de maíz en el Estado de México en función de la producción potencial. Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México, México.

SAGARPA. (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2017. Planeación agrícola nacional 2017 - 2030. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). CDMX, México.

SADR. (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural). 2020. Maíz el cultivo de México. 07 de Julio de 2021, de Gobierno de México. Sitio web: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-el-cultivo-de-mexico?idiom=es>

SADR. (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural). 2018. Maíz el cultivo de México. 09 de Julio de 2021, Gobierno de México. Sitio web: <https://www.gob.mx/aserca/articulos/maiz-grano-cultivo-representativo-de-mexico?idiom=es>

SENASICA. (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 2017. Buenas Prácticas Agrícolas. 09 de Julio de 2021. ¿Para qué sirven las Prácticas Agrícolas? México. Sitio web: <https://www.gob.mx/senasica>

SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2014. Estadísticas de Producción para el Año Agrícola 2012. 12 de septiembre 2022 Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Sitio web: www.siap.gob.mx/index

SIE. Subdirección de Información y Estadística, Secretaría del Campo. 2020. Producción Agrícola del Estado de México 2011 - 2020. Metepec, Estado de México, México.

Trueba, C. C. 2009. El origen del maíz naturaleza y cultura en Mesoamérica Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX, México.

Wilkes, H. G. y Goodman, M. M. 1995. Mystery and Missing Links: The origen of Maize. En: Maize Genetics Resources. Taba. Maize Program Special Report. CIMMYT, CDMX, México.

Witting, P. E. 2001. Evaluación Sensorial: Una metodología actual para la tecnología de alimentos. Biblioteca digital de la Universidad de Chile, Chile.