

PRESENCIA DE AFLATOXINAS Y HONGOS AFLATOXIGÉNICOS EN MAÍZ AMARILLO TIPO DURO CLASE I DE LA ZONA NORORIENTAL DE VENEZUELA

MICOTOXIGENIC FUNGUS AND AFLATOXIN LEVELS PRESENT IN YELLOW KERNELS TYPE HARD CLASS I FROM THE NORTHEASTERN ZONE OF VENEZUELA

DRUVIC LEMUS ESPINOZA¹; MARIA T. MANISCALCHI BADAOU¹; ROBERTO VERA²; JOSÉ DE FREITAS²; ANA SANGERMANO²

¹Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Grupo de micología aplicada.

²Universidad Santa María, Núcleo de Oriente, Facultad de Farmacia, Catedra de Microbiología.
lemusd@yahoo.com; mteresa23@yahoo.com

RESUMEN

Los hongos y las aflatoxinas en granos de maíz representan un grave problema para la industria alimenticia, especialmente en países tropicales y subtropicales, debido a las características climatológicas, que favorecen la colonización y síntesis de estos metabolitos. Esta investigación se llevó a cabo con el fin de identificar las especies de hongos que alteran la calidad del maíz amarillo tipo duro clase I y determinar la presencia de aflatoxinas en el mismo. Se recolectaron muestras secas de maíz amarillo en mercados y empresas de cinco ciudades del oriente venezolano. Los granos se cultivaron en cámara húmeda en agar papa dextrosa y extracto de malta, ambos incubados a 30°C por siete a veintiún días, para el aislamiento e identificación de los micetos. La detección y cuantificación de aflatoxinas se realizó por medio del método inmunoenzimático Agri-Screen®. Las especies aisladas fueron: *Penicillium citrinum* (28,57%), *P. piceum* (14,29%), *Acremonium strictum* (28,57%), *Fusarium oxysporum* (14,29%) y *Aspergillus flavus* (14,29%). Sólo en la muestra de Puerto la Cruz se detectaron valores de aflatoxinas mayores a 20 ppb. La presencia de esta toxina en concentraciones mayores a los permitidos según las normas de control de calidad en Venezuela, establecidas por la Comisión Venezolana de Normas Industriales del Ministerio de Fomento (COVENIN), constituye un riesgo potencial de ingesta de aflatoxinas, pudiéndose convertir, no sólo en un problema sanitario, sino también con implicaciones económicas.

PALABRAS CLAVE: Hongos micotoxigénicos, Aflatoxina, maíz.

ABSTRACT

Fungus and aflatoxin in kernels represent a serious problem for the nutritious industry, particularly in tropical and subtropical countries due to the climatological characteristics that favor colonization and synthesis of these substances. This investigation was carried out to identify the species of fungus that alter the quality of the yellow corn of the type hard class I and to determine aflatoxin in the same corn. For this, dry samples of yellow corn were gathered in markets and companies of five cities of the Venezuelan east. For the isolation and identification of fungal populations, the grains were cultivated in a humid camera, in potato dextrosa agar and extract of malt, both incubated at 30°C by a period of seven to twenty-one days. Aflatoxin determination was carried out by the immunoenzymatic method Agri-Screen®. The isolated species were: *Penicillium citrinum* (28,57%), *Penicillium piceum* (14,29%), *Acremonium strictum* (28,57%), *Fusarium oxysporum* (14,29%) and *Aspergillus flavus* (14,29%). Values more than 20 ppb of aflatoxin were detected in Puerto la Cruz samples. The presence of this toxin in concentrations higher than those allowed according to the norms of quality control in Venezuela, settled by Comisión Venezolana de Normas Industriales, Ministerio de Fomento (COVENIN) constitutes a potential risk of aflatoxin ingestion. This ingestion, in turn, could represent not only a sanitary problem, but also a problem with economic implications.

KEY WORDS: Micotoxigenic fungus, Aflatoxin, corn.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es, después del arroz, el cultivo más importante en Venezuela, es un componente esencial en la dieta de la población, en especial la de menos recursos, además es utilizado como materia prima para la elaboración de cereales, harinas precocidas, aceites y alimentos para animales, por sus bajos costos y por su valor nutritivo; este grano no es cosechado durante todo el año, debido a que las condiciones de humedad, temperatura y tipo de suelo que favorecen su desarrollo no son constantes. En Venezuela las características climáticas se dividen en dos periodos, lluvia y sequía, por esta razón las industrias que trabajan con este grano lo adquieren en grandes cantidades, principalmente en el mes de septiembre, que es la temporada de mayor producción y lo almacenan por un tiempo indeterminado en silos y galpones, hasta que se acumule en suficiente cantidad para ser procesado o colocado en el mercado (Mazzani *et al.*, 1995; Mazzani *et al.*, 1998; Paliwal *et al.*, 2001).

En muchas ocasiones el almacenamiento inadecuado (en cuanto a ventilación, temperatura, incidencia de luz, entre otros) provoca alteraciones físico químicas del grano, que predisponen la aparición de diversos hongos con participación de especies únicas o en combinación de ellas, que invaden los granos partidos y colonizan la parte exterior de este, siendo los géneros más frecuentemente involucrados *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Eurotium*, los cuales actúan como indicadores biológicos de la calidad del maíz. González *et al.*, (1985); Müller, (1981); pero también se ha demostrado la ocurrencia natural desde el campo, encontrándose en ocasiones que los niveles de contaminación detectados hacen improbable un almacenamiento seguro (Pineda y Carrasco, 1997; Malaguti, 2000; Mazzani *et al.*, 2000).

La invasión, desarrollo y crecimiento de estos hongos en el grano es de gran significación, ya que pueden originar la síntesis de metabolitos fúngicos, primarios y secundarios, tóxicos para los animales y el hombre denominados micotoxinas, las cuales poseen un elevado poder inmunosupresor, carcinogénico, mutagénico y teratogénico, caracterizándose por una acción rápida de intoxicación y una acción lenta de cancerización (Cabañes, 2000; Peraica *et al.*, 2000; Ferris-Tortajada *et al.* 2001). La aflatoxina B₁ está entre los más potente carcinógenos conocidos, estas toxinas pueden desarrollarse en la etapa de maduración del maíz en el campo, durante el transporte ó en el

almacenamiento (Cabañes, 2000; Malaguti, 2000; Mazzani *et al.*, 2000).

En Venezuela se ha reportado la presencia de aflatoxinas y hongos (muchos de ellos micotoxigénicos) afectando cultivos de maíz, maní, algodón, ajonjolí, girasol, cacao, sorgo y soya (Martínez, 1991; Mazzani *et al.*, 1995; Fernández-Surumay *et al.*, 2000). La posible existencia de mohos aflatoxigénicos en nuestro ambiente, dadas las condiciones de almacenamiento, hacen pensar que el maíz de la zona oriental del país pueda presentar ciertos niveles de aflatoxinas, pudiendo ocasionar alteraciones en la salud de animales y personas inmunocomprometidas y/o sanas.

Esta investigación tuvo por objeto identificar las especies micóticas y verificar la presencia de aflatoxinas en maíz amarillo, adquirido de las principales ciudades del oriente venezolano, destinado a la elaboración de productos de consumo.

MATERIALES Y METODOS

Selección de muestras.

Fueron obtenidas dos muestras, de 5 kg cada una, de maíz almacenado en los principales mercados municipales de Maturín, Cumaná, Anaco, Puerto la Cruz y Porlamar, así como también de dos empresas procesadoras de este grano ubicadas en Cumaná y Caicara de Maturín. Las muestras se colocaron en bolsas plásticas transparentes estériles, con cierres herméticos fueron debidamente identificadas, posteriormente se enviaron al Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui de la Universidad de Oriente, donde se subdividieron en porciones de trabajo de 500 g para ser analizadas. Todas las muestras se recolectaron con entornos ambientales similares cuya temperatura de almacenaje osciló entre 28°C y 30°C, con una humedad relativa media de 62,6%. Siguiendo el normativo COVENIN N° 1935-87, todas las muestras se clasificaron como maíz tipo duro o córneo, amarillo, clase I.

Aislamiento e identificación de mohos.

Se seleccionaron granos sin daños mecánicos, partidos, cristalizados, de otro color diferente del natural o dañados por insectos, según Norma COVENIN N° 1935-87. Seguidamente se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1,5% por tres minutos, luego se lavaron con agua destilada estéril (Bucio-Villalobos *et al.*, 2001).

Posteriormente, se realizó la siembra directa de cinco granos de maíz por placa de cultivo en agar extracto de malta (EMA), Difco y agar papa dextrosa (PDA), Hi Media, ambos incubados a 30°C, por un periodo entre 7 y 21 días. Concluido el período de incubación se procedió al aislamiento e identificación de cada una de las cepas desarrolladas en los agares, a las colonias desarrolladas sobre estos medios, se le tomaron nota de sus características macroscópicas y microscópicas para su identificación, mediante el empleo de claves especializadas de identificación taxonómica (Raper y Fennell, 1965; Samson y Pitt, 2000).

DetECCIÓN DE AFLATOXINAS

Prueba Presuntiva de Aflatoxinas.

Se aplicó el “Test presuntivo de amarillo-verdoso” (método cualitativo) según norma COVENIN N° 1935-87, el cual esta asociado con la presencia de aflatoxinas, cuando se detecta fluorescencia amarillo verdoso en los granos de maíz almacenados (maíz acondicionado), al hacer incidir luz ultravioleta a 365 nm por tres minutos en cuarto oscuro, sobre una muestra de aproximadamente 500 g, colocada sobre una hoja de papel blanco, empleándose una lámpara ultravioleta de onda larga, modelo UVGL-25.

Método inmunoenzimático Agree Screen. (Detección de Aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂)

Principio de la prueba

Se utilizó una prueba de ELISA directa competitiva, la cual proporciona un resultado de screening visible, contra un patrón positivo con concentración de toxina conocida de 20 ppb. La toxina libre en la muestra y el control, compiten con el conjugado por los sitios de enlace del anticuerpo, colocado en el interior de las celdas en la microplaca. En este ensayo después del paso de lavado, el sustrato enzimático es catalizado y reacciona con la enzima unida al conjugado para producir cambios de colores en la solución. La intensidad de color dependerá de la cantidad de enzima-conjugada de aflatoxina B₁, B₂, G₁ y G₂ unida al anticuerpo presente. Si la muestra resulta un color azul más claro que el control, está contiene más toxina que el control.

Muestras. Preparación y extracción.

Las muestras analizadas fueron recogidas y procesadas de acuerdo a las técnicas sugeridas en el método Agree

Screen, Neogen. Este método es recomendado por la Association of Analytical Communities, International (AOAC, 1989); método oficial n°990.32, para determinación de aflatoxinas totales en maíz.

Los granos fueron reducidos en molino hasta un tamaño de partícula no mayor de 20 mesh (Thomas Wiley). Se tomaron 10 g de la muestra y se mezcló con 50 ml de metanol al 70%, agitándose por un minuto a velocidad máxima en licuadora comercial. El extracto fue filtrado a través de un papel Whatman N° 1 y recolectado en fiola de 25 ml.

PROCEDIMIENTO

Se agregaron 100 µl del conjugado en cada uno de los pozos de mezclado. Luego se añadió la misma cantidad de muestra y control de 20 ppb en los pocillos correspondientes y se mezcló ligeramente. Posteriormente, se transfirieron 100 µl del anticuerpo a las celdas y se incubaron durante 2 minutos. Seguidamente, se sacudió el líquido contenido en las celdas sensibilizadas y se lavaron cada una con agua destilada, repitiéndose este último paso cinco veces. Se colocó, después del lavado, 100µl de la enzima sustrato a cada muestra y se le dejó en reposo por 3 minutos; a continuación, se incorporó 100µl de la solución de stop a cada pozo, para proceder a la lectura visual de las celdas y compararlas con el control de 20 ppb.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las especies aisladas (Tabla 1) fueron: *Penicillium citrinum* (28,57%), *Penicillium piceum* (14,29%), *Acremonium strictum* (28,57%), *Fusarium oxysporum* (14,29%) y *Aspergillus flavus* (14,29%), coincidiendo con algunos autores Cati y Mazzani, (1991); Pineda y Carrasco, (1997); Mazzani, C. *et al*, (1998), quienes indican que los hongos de estos géneros detectados son frecuentes en el maíz producido en Venezuela y señalan a *Aspergillus flavus* y *Penicillium citrinum* como los más comunes, en granos tipo duro. Sin embargo, también señalan a *Fusarium moniliforme*, junto con las dos especies anteriores, como responsable frecuente en la invasión del tegumento y cubierta de las semillas, mientras que la especie aislada en este trabajo fue *F. oxysporum*, presente únicamente en las muestras provenientes de Porlamar, el cual es un representante del género que está más relacionado con infecciones en tomates y sorgo, aun cuando Cati y Mazzani (1991) establecen en su estudio que fue la especie de mayor incidencia que infectaba el maíz, seguido de *A. flavus*.

Tabla 1. Detección de especies fúngicas y aflatoxinas en maíz amarillo acondicionado de cinco poblaciones de la región nor-oriental.

Procedencia	Especies aisladas	Prueba luz uv (+ ó -)	Agree Screen <ó> 20 ppb
Porlamar	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>Penicillium piceum</i>	-	<20 ppb
Cumaná	<i>Acremonium strictum</i> <i>Penicillium citrinum</i>	-	<20 ppb
Maturín	<i>Acremonium strictum</i>	-	<20 ppb
Anaco	<i>Penicillium citrinum</i>	-	<20 ppb
Puerto la Cruz	<i>Aspergillus flavus</i>	+	>20 ppb

El género *Fusarium* es un importante invasor del maíz y productor de micotoxinas como las fumonisinas (principalmente por *Fusarium moniliforme* y *Fusarium proliferatum*), las cuales presentan una elevada toxicidad y representan un riesgo importante en la salud animal y humana Malaguti, (2000); Mazzani *et al*, (2000); Mazzani *et al*, (2001), pero existen otras micotoxinas que pueden ser producidas por diversos integrantes de éste género, por ejemplo, *F. oxysporum* es una de las varias especies que es capaz de producir moniliformina, una nefrotoxina Comerio, (2000), la cual podría estar presente en la muestra.

El género aislado con mayor frecuencia fue *Penicillium* sp. (42,86%), proveniente de las muestras de Cumaná, Porlamar y Anaco, el cual es un hongo de almacenaje que con frecuencia invade el grano en condiciones de humedad. Es de resaltar que *P. citrinum* se ha identificado como productor de una micotoxina denominada citrina, con un importante poder nefrotóxico Comerio, (2000); aún cuando la sola presencia del agente micotoxigénico no es suficiente para aseverar la existencia de la toxina, ni su ausencia garantiza que el alimento esté libre de contaminación, el aislamiento de esta especie es un significativo indicio de que la nefrotoxina podría encontrarse en el producto.

Acremonium strictum (anteriormente denominado *Cephalosporium acremonium*), un moho menos frecuente en los granos maíz, prevaleció en las muestras provenientes de Cumaná y Maturín. Su presencia se ha descrito en plantas de maíz que presentan pudriciones del tallo después de la floración, causándole a la planta

una enfermedad frecuente llamada ‘haces vasculares negros’, la que aparece, generalmente, cuando la mazorca está bien desarrollada, transmitiéndose posteriormente a la semilla Paliwal *et al*, (2001), esto sugiere la probable introducción del hongo desde el momento de la cosecha y antes de su almacenaje.

En la muestra de Puerto la Cruz, se aisló *Aspergillus flavus*, esta especie está muy vinculada con la aparición de aflatoxina B₁. Actualmente es conocido que las aflatoxinas son producidas principalmente por *A. flavus* y *A. parasiticus*, que son especialmente comunes en los trópicos y subtropicos, lo que explica la positividad de la prueba presuntiva de aflatoxina en donde se reconoció la fluorescencia amarillo verdoso de los granos de esta muestra (Figura 1), así como la detección de valores mayores a 20 ppb de aflatoxinas para el maíz colectado en esta ciudad.

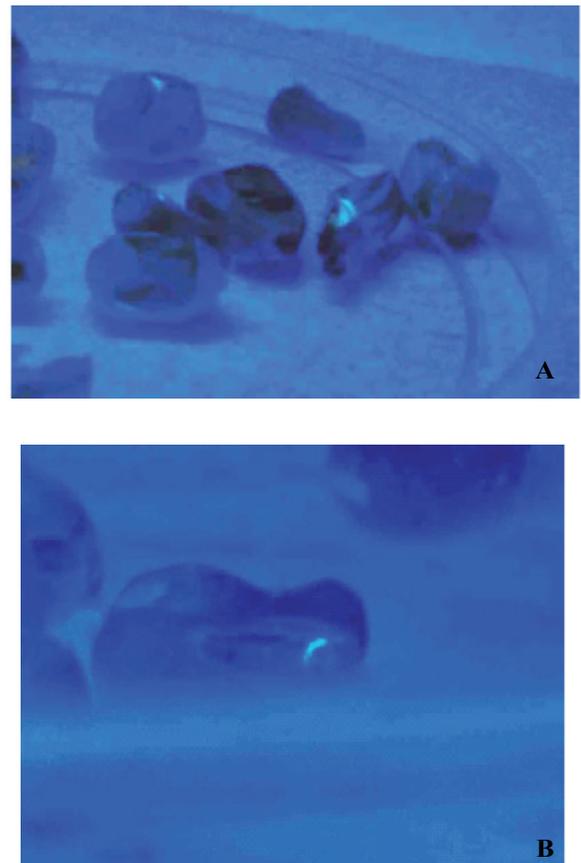


Figura 1. Prueba presuntiva del amarillo verdoso. A. Observación de fluorescencia amarillo-verdosa en granos de maíz de las muestras colectadas en Puerto la Cruz. B. Ampliación de un grano con clara zona de fluorescencia.

Este método inmunoenzimático semicuantitativo, cuando no se emplea un lector automatizado, tiene la desventaja de no expresar cantidades exactas de toxinas, sino que los resultados se enuncian en valores comparativos a un patrón visual de concentración conocida como "mayor que" y "menor que", no obstante, este tipo de técnica está aprobada por la AOAC Internacional (Association of Analytical Communities International), ya que tiene como ventajas que es rápido, específico, permite analizar grandes volúmenes de muestra, es menos costoso y más seguro debido al poco volumen de disolvente que utiliza (AOAC, 1989; Park *et al*, 1989; Trucksess y Stack 1994). Otros métodos cualicuantitativos que existen son la cromatografía de capa fina, cromatografía líquida de alta resolución o HPLC, que sin lugar a dudas son métodos más precisos para la determinación cuantitativa de aflatoxinas, sin embargo requieren de equipos y materiales que son muy costosos y difíciles de adquirir.

La contaminación por aflatoxinas en maíz es un problema de importancia internacional, sobre todo en aquellos países con clima tropical y subtropical donde la infección por *Aspergillus* se ve favorecida; entre otros factores, se ha reportado que la sequía, como condición del medio ambiente y la fertilización nitrogenada empleada en la práctica agronómica son favorables para la síntesis de aflatoxinas en el campo Malaguti, (2000); Bucio-Villalobos *et al* (2001); Perozo *et al* (2003); Mazzani *et al* (2004), sin embargo en un estudio realizado en 'El Bajío', México, para investigar si la contaminación del maíz almacenado de esa región está relacionado con la infección por *Aspergillus* desde el campo, Bucio-Villalobos y colaboradores (2001) encontraron que esta contaminación por aflatoxinas en maíz se debía a las deficientes condiciones de almacenaje luego de cosechado. Otro factor epidemiológico, involucrado en la dispersión de mohos aflatoxigénicos, son los insectos que plagan el maíz, lo cual podría actuar como fuente de inóculo primario y secundario (Mazzani *et al* 2004). Todo esto sugiere que, probablemente, el hallazgo de aflatoxinas, en el maíz colectado de Puerto la Cruz, sea debido a las condiciones desfavorables de almacenaje, pero es necesario realizar estudios controlados como el citado anteriormente para verificar el origen de la contaminación y poder así establecer medidas preventivas al respecto.

Siendo la concentración de aflatoxinas detectadas, en la muestra de Puerto la Cruz, mayor a 20 ppb, hay que tener en consideración que las micotoxinas, en particular las aflatoxinas, deberían encontrarse en los alimentos en la menor cantidad posible y puesto que los agentes productores de dichas sustancias se encuentran en los

nutrientes primarios como contaminantes naturales, no se puede evitar completamente la exposición humana o de animales, por lo que se debe tolerar hasta ciertos niveles (Ferris-Tortajada *et al*. 2001). La legislación Venezolana vigente establece niveles máximos de 5 ppb de aflatoxinas en alimento para consumo humano (COVENIN, 1987) y de hasta 20 ppb para materia prima de elaboración de alimento concentrado para aves (COVENIN, 1983); cabe señalar que la normativa COVENIN 1935-87, está actualmente en revisión y la publicación oficial de ésta aún no se encuentra disponible, pero la FAO/OMS (2004) señala que la reglamentación Venezolana, para micotoxinas en maíz y sus derivados, admite concentraciones de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ de hasta 20 ppb; no obstante, siendo estos valores permitidos similares a los aceptados en otras regiones, como E.E.U.U. y otros países latinoamericanos y europeos, en donde indican permitir valores desde 1 hasta 20 ppb para alimento destinado a personas y rangos desde 20 a 300 ppb para animales (FAO/OMS, 2004), la falta de rigurosidad en el control de calidad de este grano empleado para la producción de alimento ha generado problemas de salud, principalmente en animales domésticos.

Con base en el objetivo de este trabajo que fue identificar la presencia de hongos micotoxigénicos y realizar un "screening" sobre aflatoxinas en muestras de maíz acondicionado en la zona nororiental del país, la presencia de esta toxina en concentraciones mayores a las permitidas, según las normas de control de calidad en Venezuela y teniendo el antecedente de cuadros agudos de intoxicación animal, queda establecido el riesgo potencial de la ingesta de aflatoxinas en cantidades importantes, de forma que se puedan generar patologías crónicas o cuadros de intoxicación aguda. Hay que recordar que en Venezuela se emplea el maíz en forma de harina precocida para la elaboración de arepas, también se utiliza en la elaboración de alimentos autóctonos como cachapas, bollos, majarettes, mazamorra, entre otros y en la industria alimentaria para la producción de cereal en hojuelas, almidón, aceite y otros productos; por lo demás, se ha demostrado que las aflatoxinas pueden resistir parcialmente la degradación al someter el grano contaminado a los procesos de transformación para su consumo como harinas o piensos, que son metabolizados por los animales de granja generando metabolitos secundarios similarmente tóxicos (principalmente aflatoxina M₁ y M₂) o que pueden acumularse en sus tejidos, de forma que se convierten en fuentes indirectas del aporte de estas toxinas, a través de las carnes, leche y huevos, e incluso afectando la producción de estos productos alimenticios al incidir directamente en el desarrollo y crecimiento del ganado y

aves de corral Cabañes, (2000); Fernández-Surumay *et al.* (2000); Peraica *et al.*, (2000); Ferris-Tortajada *et al.* (2001); Bermudez-Almada *et al.*, 2002; Perozo *et al.* (2003), pudiéndose convertir, no sólo en un problema sanitario, sino también con implicaciones económicas.

CONCLUSIONES

La presencia de las especies *Acremonium strictum*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium piceum*, *Fusarium oxysporum* y *Aspergillus flavus* en las muestras examinadas sugieren que desde algún punto de la cadena (comenzando en el productor hasta el almacenamiento) existen condiciones que favorecen el crecimiento de estos hongos, factor que puede traer consecuencias económicas negativas tanto al productor, al industrial y finalmente al comerciante, lo que además implica riesgo potencial de ingesta de micotoxinas en los productos finales de consumo, pudiéndose convertir en un problema sanitario.

El aislamiento de las especies micóticas señaladas, en las muestras evaluadas de maíz, constituyen un riesgo de contaminación con otras micotoxinas diferentes de las aflatoxinas, cuya presencia es la única que está reglamentada según las normas de control de calidad nacionales en este tipo de alimento.

RECOMENDACIONES

Se recomienda reforzar la vigilancia y control de aflatoxinas y sus metabolitos en alimentos, tanto para consumo humano como animal, así como reglamentar de forma obligatoria, la búsqueda de otras micotoxinas, como las fumonisinas, producidas por especies de *Fusarium*, colonizadores frecuentes de la planta de maíz.

Realizar estudios controlados para verificar el origen de la contaminación (en el campo y/o en el almacenaje) y así poder establecer medidas preventivas al respecto.

Aumentar las investigaciones sobre el control químico de hongos en los granos y su aplicabilidad en los cultivos venezolanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. 1989. Official Methods of Analysis the Association of Official Analytical Chemistry. 17th Edition. Chapter 49.
- BERMÚDEZ-ALMADA M.; ESPINOSA-PLASCENCIA A.; VALENZUELA-QUINTANAR A.; VÁZQUEZ-MORENO L. 2002. Extracción y determinación de aflatoxinas en muestras de hígado y músculo de cerdos. Rev. Cient. Vet. FCV-LUZ. Vol. XII: 53-59.
- BUCIO-VILLALOBOS C; GUZMÁN DE PEÑA D.; PEÑA-CABRIALES J. 2001. Síntesis de aflatoxinas en campos de maíz en Guanajuato, México. Rev Iberoam Micol; 18: 83-87.
- CABAÑES F. 2000. Micotoxinas emergentes. Introducción. Rev Iberoam Micol; 17: S61- S62.
- CATI S.; MAZZANI C. 1991. Micoflora de granos de maíz almacenados en el estado Guarico (Venezuela): identificación y cuantificación. Fitopatol. Venez. 4(2): 54-58.
- COMERIO R. 2000. Nefrotoxinas y especies nefrotóxicas del género *Penicillium* Link. Rev Iberoam Micol; 17: 82-89.
- COVENIN. COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. 1983. Alimento completo para aves. 1881-83. Caracas. Venezuela
- COVENIN. COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. 1987. Maíz para uso industrial. 1935-87. Caracas. Venezuela
- FAO/OMS. 2004. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en alimentos y en las raciones en el año 2003. Estudio FAO: Alimentación y Nutrición 81. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. Italia. 45 pp.
- FERNÁNDEZ-SURUMAY G.; NEGRÓN-GONZÁLEZ G.; ISEA-FERNÁNDEZ G.; SÁNCHEZ-CAMARILLO E. 2000. Reporte de análisis cuantitativo de aflatoxinas por el método ELISA en muestras de materias primas de alimento balanceado para aves provenientes de una planta ubicada en el municipio Mara del estado Zulia, Venezuela. Rev. Cient. Vet. FCV-LUZ. Vol. X: 65-69.
- FERRIS-TORTAJADA J.; GARCÍA-CASTELL J; BERBEL O.; CLAR-GIMENO S. 2001. Micotoxinas y cáncer pediátrico. Rev. Esp. Pediatr. 57 (3): 279-280.
- GONZÁLEZ M.; HERNÁNDEZ Y.; MORATINOS H.1985. Incidencia de patógenos en semillas de maíz dulce.

- XVI Reunión de maiceros de la zona andina. FONAIAP. Maracay.
- MALAGUTI G. 2000 Protección y sanidad vegetal. Enfermedades del Maíz en Venezuela. En Fontana H. y González C. Maíz en Venezuela. Fundación Polar. Venezuela. pp 245-250
- MARTÍNEZ A. 1991. Contribución al estudio de la flora fúngica, su capacidad toxicogénica y niveles de aflatoxinas en cereales y oleaginosas cultivadas en Venezuela. UCV, Facultad de Ciencias. Caracas. Trabajo de Ascenso. 290 pp.
- MAZZANI C.; LUZÓN O.; GONZÁLEZ N.; QUIJADA P. 1995. Efecto del Shield-Na Plus (propionato de sodio y sorbato de potasio) sobre el crecimiento y la esporulación in vitro de cinco especies de hongos toxigénicos en Venezuela. Fitopatol. Venez. 8(2): 33-36.
- MAZZANI C.; GONZÁLEZ N.; LUZÓN O.; QUIJADA P. 1998. Efectividad de una mezcla de ácidos orgánicos en el control de hongos toxigénicos en granos de maíz almacenados. Fitopatol. Venez. 11(2): 36-40.
- MAZZANI C., BORGES O., LUZÓN O., BARRIENTOS V. Y QUIJADA P. 2000. *Fusarium moniliforme*, fumonisinas y *Aspergillus flavus* en granos híbridos de maíz en el estado Guárico, Venezuela. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 17: 185-195.
- MAZZANI C.; BORGES O.; LUZÓN O.; BARRIENTOS V.; QUIJADA P. 2001. Occurrence of *Fusarium moniliforme* and fumonisins in kernels of maize hybrids in Venezuela. Braz. J. Microb. 32: 345-349.
- MAZZANI C.; LUZÓN O.; CHAVARRI M. 2004. *Aspergillus flavus* asociado a *Epitragus* sp. (Coleoptera: Tenebrionidae) en maíz bajo riego en Turén, estado Portuguesa, Venezuela. Entomotropica. 19(3): 157-159.
- MÜLLER G. 1981. Microbiología de los alimentos vegetales. España. Editorial Acribia, Zaragoza. 454 pp.
- PALIWAL R. L.; GRANADOS G.; LAFITE H. R.; VIOLIC A. 2001. El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Colección FAO: Producción y protección vegetal 28. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. Italia. 68 pp
- PARK D.; MILLER B.; NESHEIM S.; TRUCKSESS M.; VEKICH A.; BIDIGARE B.; MCVEY J.; BROWN L. 1989. Visual and semiquantitative spectrophotometric ELISA screening method for aflatoxina B₁ in corn and peanut products: follow-up collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 72 (4): 638-643
- PERAICA M.; RADIC B.; LUCIC A.; PAVLOVIC M. 2000. Efectos tóxicos de las micotoxinas en el ser humano. Bol. OMS (2): 80-92.
- PEROZO F.; FERRER J.; ALVARADO M.; RINCÓN H.; MAVAREZ Y.; GIL M. 2003. Valores hematológicos en pollos de engorde expuestos de forma continua a bajas dosis de aflatoxina B₁ en el estado Zulia, Venezuela. Rev. Cient. Vet. FCV-LUZ. Vol. XIII: 59-64.
- PINEDA J.; CARRASCO A. 1997. Poblaciones de hongos asociados a inflorescencias y mazorcas de maíz (*Zea mays*). XV Congreso Venezolano de Fitopatología. Maracaibo, Zulia. 23 - 27 de Noviembre, 1997. [Resúmenes] Fitopatol. Venez. 10(2): 40.
- RAPER K.; FENNELL D. 1965. The genus *Aspergillus*. Williams y Wilkins, Baltimore, 686 pp.
- SAMSON R.; PITT J. 2000. Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification. Harwood, Amsterdam, 510 pp.
- TRUCKSESS M.; STACK M. 1994. Enzyme-linked immunosorbent assay of total aflatoxins B₁, B₂ and G1 in corn: follow-up collaborative study. J. AOAC Int. 77 (3): 655-658