

AISLAMIENTO DE *ASPERGILLUS FLAVUS* EN SORGO Y MAÍZ Y SU PRODUCCIÓN DE AFLATOXINAS, ESTERIGMATOCISTINA Y ÁCIDO CICLOPIAZÓNICO.

*Fierro, J. A., Negrete, R., Rivera, L., Altamirano, M., Muñoz, J. Y Medina, J. C.

NUTEK, S.A. DE C.V.

7 Norte # 416 C.P. 75700

Fueron removidos adicionando 3 mL a cada tubo de 0.005% de tritón X-100 y enseguida fueron agitados vigorosamente para obtener una suspensión uniforme de estas.

Fermentación y extracción: Se realizó por el método establecido por Shotweell et al.

Análisis de las micotoxinas: Las muestras se analizaron por cromatografía de líquidos (HPLC), la detección y cuantificación de estas micotoxinas se efectúa por fluorescencia. AOAC INTERNATIONAL 994.08 (1).

RESULTADOS.

Las cuatro cepas de *Aspergillus flavus*, producen aflatoxinas B1 y B2, pero no aflatoxinas G1 y G2. Las cepas aisladas de muestras de maíz además producen esterigmatocistina y ácido ciclopiazónico y solo una cepa aislada de sorgo produce ácido ciclopiazónico. Las tablas nos muestran los resultados obtenidos en las fermentaciones de arroz, inoculados con las cuatro cepas de *Aspergillus flavus*. Las máximas concentraciones de aflatoxinas B1 y B2, esterigmatocistina y ácido ciclopiazónico se obtuvieron de una cepa aislada de una muestra de maíz, con valores de: 157 ppm B1, 5.84 ppm B2, 0.105 ppm esterigmatocistina y 1.560 ppm de ácido ciclopiazónico. Las concentraciones mínimas de aflatoxinas B1 y B2, fueron obtenidas de una cepa aislada de la muestra de sorgo con los siguientes valores: 1.7 ppm de B1 y 0.58 ppm de B2, esta cepa no produce esterigmatocistina y ácido ciclopiazónico. Como dato importante la aflatoxina B1 predominó sobre las otras micotoxinas.

Tablas de resultados:

Producción de aflatoxina B1 por las cuatro cepas de *Aspergillus flavus*.

	A (sorgo) ppm	B (maíz) ppm	C (maíz) ppm	D (sorgo) ppm
Experimento 1	44.4	46	157	1.7
Experimento 2	62	63.72	102.64	16.5
Experimento 3	96.92	37.2	131.76	2.5
Experimento 4	132.94	45.64	135.2	9.5
Media	84.1	48.14	131.65	7.55
Valor máximo	132.94	63.72	157	16.5

Producción de aflatoxina B2 por las cuatro cepas de *Aspergillus flavus*.

	A (sorgo) ppm	B (maíz) ppm	C (maíz) ppm	D (sorgo) ppm
Experimento 1	0.64	1.4	4.38	1.84
Experimento 2	1.74	1.66	3.6	0.58
Experimento 3	2.4	1.16	5.84	0.72
Experimento 4	5.74	1.6	5.56	1.98
media	2.63	1.46	4.85	1.28
Valor máximo	5.74	1.66	5.84	1.98

Producción de esterigmatocistina por las cuatro cepas de *Aspergillus flavus*.

	A (sorgo) ppm	B (maíz) ppm	C (maíz) ppm	D (sorgo) ppm
Experimento 1	<0.001	<0.001	0.105	<0.001
Experimento 2	<0.001	0.016	0.022	<0.001
Experimento 3	<0.001	0.010	0.017	<0.001
Experimento 4	<0.001	0.006	0.017	<0.001
Media		0.008	0.040	
Valor máximo		0.016	0.105	

Producción de ácido ciclopiazónico por las cuatro cepas de *Aspergillus flavus*.

	A (sorgo) ppm	B (maíz) ppm	C (maíz) ppm	D (sorgo) ppm
Experimento 1	0.130	0.260	1.560	<0.001
Experimento 2	0.260	0.300	1.200	<0.001
Experimento 3	0.860	1.040	0.910	<0.001
Experimento 4	0.360	0.935	1.030	<0.001
Media	0.40	0.634	1.175	
Valor máximo	0.860	1.040	1.560	

DISCUSIÓN.

El tiempo de incubación, es un parámetro importante del hongo en la coproducción de las micotoxinas. Debemos tomar en cuenta que cada micotoxina en particular se comporta de manera diferente. La producción de dos o mas micotoxinas por una sola cepa del hongo, actualmente ha sido poco estudiada. El efecto de la temperatura, humedad y sustrato, desempeñan un papel importante en la coproducción de las micotoxinas, ya que para obtener máximas concentraciones de una micotoxina en particular, debemos variar y controlar estos parámetros (2,3,12). Shotweell et al. (10), estudiaron el tiempo de incubación y el efecto de la agitación en la producción de aflatoxinas, con agitación se obtienen las máximas concentraciones a los 5 días de incubación, y sin agitación se obtienen alrededor del día 15. Este trabajo demuestra la capacidad del hongo *Aspergillus flavus* para producir altas concentraciones de micotoxinas, cuando encuentra las condiciones optimas, hecho que puede ocurrir en algunas zonas de las bodegas de almacenamiento de granos o en los silos de alimentos terminados.

CONCLUSIÓN.

En este trabajo se demuestra que cada cepa de *Aspergillus flavus* es capaz de producir diferentes micotoxinas simultáneamente. La coproducción de dos o mas micotoxinas por una especie de hongo, desempeña un papel importante en la industria pecuaria, ya que pueden tener un efecto aditivo o sinérgico sobre sus competidores (otros hongos) o consumidores, incrementando su toxicidad y permitiendo la colonización de un gran numero de sustratos (3,5). Los efectos del ácido ciclopiazónico y las aflatoxinas son letales en cerdos guinea por su efecto sinérgico. Dowd también demostró el mismo efecto entre las aflatoxinas y el ácido kojico contra insectos (5). Se concluye que la interacción entre humedad, temperatura, tiempo de incubación y sustrato son los factores mas críticos para el crecimiento del hongo y para la producción de micotoxinas.

BIBLIOGRAFÍA:

1. AOAC International. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed., p. 24. cp.49. AOAC International, Arlington, Va.
2. Fierro, J. A., R. Negrete, L. Rivera, J. Muñoz and J. C. Medina. 1999. Comparison of five *Aspergillus* strains and their mycotoxin production. 90th American Oil Chemists' Society. AOCS Annual Meeting & expo. Orlando, Florida, USA.
3. Fierro, J. A., R. Negrete, L. Rivera, J. Muñoz Y J. C. Medina. 1999. Cinética de la producción de micotoxinas por una cepa de *Aspergillus flavus*. XVI Congreso Latinoamericano de Avicultura. Lima Perú (en prensa).
4. Flaherty, J. E., and G. A. Payne. 1997. Overexpression of *affR* leads to upregulation of pathway gene transcription and increased aflatoxin production in *Aspergillus flavus*. Appl. Environ. Microbiol. 63: 3995-4000.
5. Goalen, N., J. E. Smith, J. Lacey, and G. Gettinby. 1997. Effects of temperature, water activity, and incubation time on production of aflatoxins and cyclopiazonic acid by an isolate of *Aspergillus flavus* in surface agar culture. Appl. Environ. Microbiol. 63: 1048-1053.
6. Keller, N. P., N. J. Kantz, and T. H. Adams. 1994. *Aspergillus nidulans* *verA* is required for production of the mycotoxin sterigmatocystin. Appl. Environ. Microbiol. 60: 1444-1450.
7. Liu, B. H., and F. S. Chu. 1998. Regulation of *affR* and its product, *affR*, associated with aflatoxin biosynthesis. Appl. Environ. Microbiol. 64: 3718-3723.
8. Nielsen, P. V., L. R. Beuchat, and J. C. Frisvad. 1988. Growth and fumitremorgin production by *Neosartorya fischeri* as affected by temperature, light, and water activity. Appl. Environ. Microbiol. 54: 1504-1510.
9. Ominski, K. H., R. R. Marquardt, R. N. Sinha, and D. Abramson. 1994. Ecological aspects of growth and mycotoxin production by storage fungi. Mycotoxins in Grain: compounds other than aflatoxin. p. 287-312. cp. 6. Plant research centre agriculture Canada Ottawa, Ontario, Canada. Centre for food and animal research agriculture Canada Ottawa, Ontario, Canada.
10. Shotwell, O. L., C. W. Hesseltine, R. D. Stubblefield, and W. G. Sorenson, 1966. Production of aflatoxin on rice. Appl. Microbiology. 14:425-428.
11. Smith, J. W., and P. B. Hamilton. 1969. Technique for the aseptic addition of liquid to flask cultures. Appl. Microbiology. 17: 317 Smith, J. W., and P. B. Hamilton. 1969. Technique for the aseptic addition of liquid to flask cultures. Appl. Microbiology. 17: 317
12. Wyllie, T. D., and L. G. Morehouse. 1978. The genus *Aspergillus*. Mycology of mycotoxic fungi. Part 1: 21-39.
13. Yabe, K., Y. Ando, and T. Hamasaki. 1988. Biosynthetic relationship among aflatoxins B1, B2, G1 and G2. Appl. Environ. Microbiol. 54: 2101-2106.
14. Yu, J., P. K. Chang, J. W. Cary, M. Wright, D. Bhatnagar, T. E. Cleveland, G. A. Payne, and J. E. Linz. 1995. Comparative mapping of aflatoxin pathway gene clusters in *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*. Appl. Environ. Microbiol. 61: 1365-2371.