

***Aspergillus flavus* y aflatoxinas en granos de maíz molido provenientes del estado Guárico, Venezuela**

Marleny Chavarri y Jesús Freites

¹Laboratorio de Micotoxicología del Instituto de Química y Tecnología, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apdo. 4579. Maracay 2101, Aragua. Venezuela

RESUMEN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cereales con mayor superficie de cultivo sembrado a nivel mundial. Sus granos pueden ser colonizados por mohos, los cuales disminuyen sus propiedades nutricionales y lo contaminan con micotoxinas. Para cuantificar los mohos totales, *Aspergillus flavus* y aflatoxinas, en granos de maíz molido, se analizaron muestras provenientes de cuatro municipios del estado Guárico (Ortiz, Roscio, Miranda y Mellado), Venezuela. Para la detección fúngica se utilizó el método de conteo en placa, con el medio de cultivo agar extracto de malta. Las aflatoxinas se cuantificaron por el método de ELISA. Se realizó la estimación de la media de la concentración de aflatoxinas totales con respecto a la incidencia de *A. flavus*, utilizando un intervalo de confianza de 95%, para hacer la correlación de Pearson. El 100% de las muestras analizadas presentaron contaminación fúngica. El conteo promedio de mohos totales fue de $4,53 \times 10^6$ UFC/g de muestra y *A. flavus* de $3,44 \times 10^6$ UFC/g de muestra, superando el límite permitido ($\leq 1 \times 10^4$ UFC/g). El contenido promedio de aflatoxina fue bajo (2,53 ng/g). El 96,43% de las muestras presentaron valores por debajo del límite máximo permitido de aflatoxinas (20 ng/g). Los resultados confirman que el estado Guárico es un área de alto riesgo de contaminación con *A. flavus* y aflatoxinas, es necesario encontrar híbridos de maíz resistentes a la incidencia fúngica y sus micotoxinas, debido a que la ingesta periódica de aflatoxinas en dosis bajas tiene efecto inmunosupresor sobre el organismo, además de ser carcinógeno, teratógeno y mutagénico naturales.

Palabras clave: cuantificación, cereales, mohos, *Zea mays*.

***Aspergillus flavus* and aflatoxins in corn grains ground from the Guarico state, Venezuela**

ABSTRACT

Corn (*Zea mays* L.) is one of the cereals with the largest cultivated area worldwide. Its grains can be colonized by molds, which diminish their nutritional properties and contaminate it with mycotoxins. To quantify the total molds, *Aspergillus flavus* and aflatoxins, in grains of ground corn, samples were analyzed from four municipalities of Guárico state (Ortiz, Roscio, Miranda and Mellado), Venezuela. For the fungal detection, the plate counting method was used, with the malt extract agar culture medium. The aflatoxins were quantified by the ELISA method. The estimation of the mean concentration of total aflatoxins was made with respect to the incidence of *A. flavus*, using a confidence interval of 95%, to make the Pearson correlation. 100% of the samples analyzed showed fungal

*Autor de correspondencia: Marleny Chavarri

E-mail: marlenycomoto@gmail.com

contamination. The average count of total molds was $4,53 \times 10^6$ UFC / g of sample and *A. flavus* of $3,44 \times 10^6$ UFC / g of sample, exceeding the allowed limit ($\leq 1 \times 10^4$ UFC / g). The average content of aflatoxin was low (2,53 ng / g). 96,43% of the samples presented values below the maximum allowed limit of aflatoxins (20 ng / g). The results confirm that Guárico state is an area of high risk of contamination with *A. flavus* and aflatoxins, it is necessary to find maize hybrids resistant to fungal incidence and its mycotoxins, because the periodic intake of aflatoxins in low doses has an effect immunosuppressant on the organism, besides being carcinogenic, teratogenic and natural mutagenic.

Key words: quantification, cereals, molds, micotoxinas, *Zea mays*.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cereales más cultivados y difundidos en muchos países, constituyendo el alimento de mayor importancia en Latinoamérica. Éste es el cultivo anual más valioso de EE.UU. y la única fuente alimenticia para muchos pueblos del mundo (Mazzani *et al.*, 2000; Mazzani *et al.*, 2008). Tiene un amplio aprovechamiento para el consumo humano y animal, así como en la industria donde se elaboran diversos productos, tales como: harinas, aceite, proteínas, almidón, bebidas alcohólicas, edulcorantes alimenticios, entre otros (Chavarri *et al.*, 2017). En Venezuela, es considerado un cultivo estratégico junto al trigo y el arroz; se produce de manera significativa por lo menos en quince estados, entre los cuales Guárico aporta cerca del 25 por ciento de la producción (Chavarri, 2014; Conferencia Nacional de Asociación de Productores, 2017).

En Venezuela se ha detectado contaminación con mohos y sus micotoxinas en granos de maíz cosechados y almacenados en diferentes estados del país (Chavarri *et al.*, 2009; Chavarri *et al.*, 2013; Barroyeta *et al.*, 2013; Chavarri *et al.*, 2017). Numerosos trabajos han demostrado que la presencia de las especies fúngicas toxigénicas de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* en los granos de maíz, no sólo afecta el rendimiento del cultivo sino que también interfieren en la calidad del producto, especialmente por la contaminación con las micotoxinas que son nocivas para la salud humana y animal, por sus marcados efectos mutagénicos, teratogénicos y carcinogénicos (Mazzani *et al.*, 2008; Lemus *et al.*, 2007; García y Martínez, 2010; Chavarri *et al.*, 2013; Martínez *et al.*, 2013; Bastidas *et al.*, 2015; Chavarri *et al.*, 2017).

Las condiciones climáticas de las regiones tropicales como las de Venezuela, favorecen el crecimiento de mohos toxigénicos en el cultivo de maíz, siendo

Aspergillus flavus Link Ex Friex un problema de primer orden para la industria de este cereal (Mazzani *et al.*, 2004; Chavarri, 2010; Castellari *et al.*, 2015), ya que éste es el principal productor de aflatoxinas, que al consumirse en altas dosis pueden inducir una intoxicación aguda que podría ocasionar la muerte. Las aflatoxinas son el resultado del crecimiento fúngico, siendo producidas por *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nonius* y *A. niger* (Abarca *et al.*, 2000; Duarte y Villamil, 2006; Martínez *et al.*, 2013). Los niveles máximos permitidos de las aflatoxinas en diversos alimentos concentrados son de 20 ng/g, en alimentos concentrados para pollos de engorde 10 ng/g, en el consumo humano 20 ng/g y en leche fluida 0,5 ng/g (Brown *et al.*, 1999; García *et al.*, 2001).

Dentro del grupo de aflatoxinas, la de mayor importancia en la salud pública es la aflatoxina B₁, la cual se relaciona con el desarrollo de carcinoma hepatocelular en poblaciones que consumen alimentos contaminados. Su mecanismo de acción tóxica luego de la ingestión de la toxina, involucra la formación de ligandos entre uno de sus metabolitos producido en el hígado con el ADN de los hepatocitos, causando alteraciones en su replicación. El carcinoma hepatocelular es una de las causas de muerte por cáncer, en especial en regiones de Asia y África, originándose estudios epidemiológicos que buscan correlacionar la presencia del carcinoma con el consumo de aflatoxinas y la alteración de éstas con otras enfermedades hepáticas (Abarca *et al.*, 2000; Duarte y Villamil, 2006; Martínez *et al.*, 2013; Alshannaq y Yu, 2017).

Dada la alta incidencia fúngica detectada en granos de maíz en Venezuela, es necesario el monitoreo de los mohos y micotoxinas en las principales zonas productoras de éste cereal, ya que es cultivo de consumo masivo, y si está contaminado podría ocasionar efectos nocivos sobre la salud humana y animal. En tal sentido, el propósito de ésta investigación fue detectar y cuantificar, mohos totales,

Aspergillus flavus y aflatoxinas en muestras de granos de maíz molido provenientes de cuatro municipios del estado Guárico, Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cuantificación y aislamiento de mohos

Se analizaron 28 muestras de 2 Kg de granos de maíz molido, provenientes de cuatro municipios del estado Guárico (19 muestras de Ortiz, 4 muestras de Roscio, 4 muestras de Miranda y 1 muestra de Mellado), de las cosechas 2012 y 2013. Las muestras fueron suministradas por una empresa procesadora de alimentos de Turmero, estado Aragua. Para la cuantificación de los mohos totales y de *A. flavus* de las muestras, se utilizó el método de contaje por incorporación en placa, tomando 10 g de cada muestra. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas de las muestras, transfiriendo los 10 g de éstas a una frasco de dilución con 90 ml de agua peptonada al 0,1% estéril, seguidamente se licuaron por cinco minutos y se obtuvo la dilución a 10^{-1} . De cada una de estas diluciones se tomó 1 ml con una pipeta estéril y se incorporaron en tubos de ensayo con 9 mL del diluyente, obteniéndose la dilución 10^{-2} . El mismo procedimiento se repitió hasta obtener la dilución 10^{-4} . Seguidamente, se transfirió 1 ml de cada dilución por duplicado en placas estériles y se le agregó el medio de cultivo agar extracto de malta a pH 5,8 licuado y enfriado a 45 °C (15 ml para cada placa). Se dejaron solidificar las placas y finalmente se incubaron herméticamente dentro de bolsas plásticas estériles a temperatura ambiente (27 ± 2 °C) con alternancia de 12 h de luz/oscuridad durante ocho días. Transcurrido el periodo de incubación se contaron las colonias de mohos presentes, tomando como criterio de contaje entre 15 y 150 UFC de mohos/g de muestra en cada placa (COVENIN 1337-90, 1990).

Conservación e identificación de los aislamientos fúngicos

Los mohos aislados se conservaron en tubos de ensayos con agar papa dextrosa (PDA) en cuña a pH 5,8, incubados a 27 ± 2 °C durante 8 días en alternancia de 12 h de luz/oscuridad. Después del tiempo de incubación, todos los aislamientos fúngicos se preservaron a baja temperatura (8-10 °C) para

su posterior identificación. Para la identificación de *A. flavus* se describieron las características de las colonias de los aislamientos en Czapek agar (pH 5,8), a partir de los cuales se hicieron preparados microscópicos para realizar el estudio morfológico de las estructuras con valor taxonómico (diámetro de los conidios, longitud del conidióforo, diámetro de la vesícula, longitud y diámetro de las métulas y fiálides, etc.) y ser comparados con la literatura especializada (Sing *et al.*, 1991; Samson *et al.*, 1995).

Detección de aflatoxinas totales (B1+B2)

La detección de aflatoxinas se realizó por método de ELISA directa competitiva (Veratox[®]), el cual permitió determinar las concentraciones exactas de la toxina en partes por billón (ng/g) presentes en las muestras. A 5 g de cada muestra se le agregó 25 mL de metanol al 70%, a continuación fueron molidas por licuación a altas revoluciones durante 3 min; la mezcla se filtró para obtener el extracto que se empleó en el análisis. Se tomaron 100 μ l del conjugado (toxina marcada con una peroxidasa) (reactivo azul) y se añadieron en los pozos de mezclado (marcados con rojo), luego, cambiando de puntas se añadieron 100 μ l del extracto y se mezclaron, de esta mezcla se tomaron 100 μ l y se pasaron a los pozos con los anticuerpos (transparentes) y se incubaron por 2 min. Se descartó la mezcla al igual que los pozos de mezclado y se lavó con agua destilada los pozos anticuerpos. Posteriormente, se añadieron 100 μ l del sustrato de la enzima (reactivo verde) y se incubó por 3 min, pasado este tiempo se agregaron 100 μ l de la solución detenedora (reactivo rojo), se mezcló y se procedió a leer los resultados en un lector ELISA a 650 nm (Yong y Cousin, 2001; Alshannaq y Yu, 2017).

Análisis estadístico

Con el programa Statistix Trial Version 9.0 para Windows, se realizó la estimación de la media de la concentración de aflatoxinas totales con respecto a la incidencia de *Aspergillus flavus*, utilizando un intervalo de confianza de 95%, para hacer la correlación de Pearson, previa comprobación de los supuestos del análisis de la varianza de los datos. Para observar la distribución que presentan los datos, se empleó el estadístico Shapiro-Wilk.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuantificación de los mohos totales y de *Aspergillus flavus*

El 100% de las muestras analizadas presentaron contaminación fúngica; los contajes de mohos totales oscilaron entre $3,1 \times 10^3$ y 5×10^7 UFC de mohos/g de muestra (Cuadro 1). El 92,86% de las muestras no cumplen con el requisito establecido por la norma COVENIN 2135-96 ($\leq 1 \times 10^4$ UFC de mohos/g de muestra). Éstos resultados coinciden con los reportados por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 1993) y García *et al.* (2013) para harina de maíz con alto contenido de germen y concha. Así mismo, en diversas investigaciones se han detectado mohos y micotoxinas en varios estados productores de éste cereal y sus derivados (Lemus *et al.*, 2007, Luzón *et al.*, 2007; Rondón, 2007, Mazzani *et al.*, 2008; Chavarri *et al.*, 2012; Barroyeta *et al.*, 2013; Chavarri *et al.*, 2013, Chavarri, 2014).

El municipio que presentó mayor contaje fúngico promedio de UFC fue Ortíz con $5,63 \times 10^6$ UFC de mohos/g de muestra, seguida de Mellado con un conteo de $1,85 \times 10^6$ y Roscio con $1,81 \times 10^6$ (Cuadro 1). Las especies fúngicas identificadas fueron *Aspergillus flavus* Link Ex Friex, *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Niremb, *Aspergillus niger* van Tieghem y *Penicillium* spp., éstas especies fúngicas detectadas coinciden con las obtenidas en las investigaciones previas realizadas en el país (Luzón *et al.*, 2007; Mazzani *et al.*, 2008; Chavarri, 2010; Chavarri *et al.*, 2013, Chavarri, 2014; Chavarri *et al.*, 2014, Chavarri *et al.*, 2017).

La especie toxígena, *A. flavus*, superó el límite establecido por la norma COVENIN 2135-96. ya que se obtuvo un contaje promedio de $3,44 \times 10^6$ UFC/g de muestra con un rango mínimo de $3,1 \times 10^3$ y un máximo de $3,7 \times 10^7$ UFC de *A. flavus*/g de muestra (Cuadro 1). Solo dos de las muestras evaluadas (ambas del municipio Ortíz) presentaron concentraciones permitidas por la norma, representando éste, el 10,53% del municipio de procedencia y 7,15% del total de las muestras en estudio. La contaminación del 92,86% de las muestras con *A. flavus*, sugiere que los granos de maíz son susceptibles a la invasión por este moho, además, es de interés por ser una especie potencialmente toxigénica asociada con la síntesis de aflatoxinas (Peraica *et al.*, 1999). Estos resultados

coinciden con los encontrados por Rondón (2007), Chavarri *et al.* (2013) y Barroyeta *et al.* (2013), en granos de maíz del estado Guárico.

Los contajes obtenidos de *A. flavus* en este estudio difieren de los encontrados por diversas investigaciones realizadas en diferentes estado del país (Mazzani *et al.*, 2000; Rondón, 2007; Chavarri *et al.*, 2009; Barroyeta *et al.*, 2013) donde se ha detectado incidencia baja de *A. flavus*. Por lo tanto, es importante considerar todos los factores que estén involucrados en la invasión fúngica, tales como, presión de inóculo, selección del genotipo resistente a infección y síntesis de micotoxinas, control de la temperatura y humedad durante su almacenamiento y transporte, condiciones ambientales, entre otros (Sartori *et al.*, 2015; El-Hamaky *et al.*, 2016).

Cuadro 1. Cuantificación de mohos totales, *Aspergillus flavus* y aflatoxinas en las muestras de maíz molido provenientes de cuatro municipios del estado Guárico, Venezuela.

Muestras	Municipio	MT (UFC/g)	AF (UFC/g)	AFLA (ng/g)
1	Ortíz	$3,45 \times 10^5$	$2,50 \times 10^5$	Nd
2	Ortíz	$1,75 \times 10^6$	$1,70 \times 10^6$	Nd
3	Ortíz	$3,50 \times 10^4$	$3,50 \times 10^4$	0,6
4	Ortíz	$2,30 \times 10^6$	$2,30 \times 10^6$	1,0
5	Ortíz	$2,10 \times 10^4$	$4,00 \times 10^3$	56,40
6	Ortíz	$1,41 \times 10^5$	$1,40 \times 10^5$	0,80
7	Ortíz	$3,10 \times 10^3$	$3,10 \times 10^3$	Nd
8	Ortíz	$2,25 \times 10^6$	$2,10 \times 10^6$	1,80
9	Ortíz	$4,00 \times 10^6$	$4,00 \times 10^6$	0,60
10	Ortíz	$2,35 \times 10^4$	$5,00 \times 10^3$	0,90
11	Ortíz	$6,62 \times 10^4$	$4,50 \times 10^4$	Nd
12	Ortíz	$3,30 \times 10^6$	$3,30 \times 10^6$	Nd
13	Ortíz	$1,50 \times 10^4$	$1,50 \times 10^4$	Nd
14	Ortíz	$2,15 \times 10^5$	$2,00 \times 10^5$	Nd
15	Ortíz	$5,00 \times 10^7$	$3,40 \times 10^7$	Nd
16	Ortíz	$2,60 \times 10^6$	$2,60 \times 10^6$	Nd
17	Ortíz	$3,70 \times 10^7$	$3,70 \times 10^7$	Nd
18	Ortíz	$4,85 \times 10^3$	$4,50 \times 10^3$	Nd
19	Ortíz	$2,85 \times 10^6$	$2,80 \times 10^6$	Nd
20	Miranda	$1,50 \times 10^5$	$1,50 \times 10^5$	0,80
21	Miranda	$1,30 \times 10^6$	$1,30 \times 10^6$	Nd
22	Miranda	$2,10 \times 10^6$	$2,10 \times 10^6$	Nd
23	Miranda	$3,20 \times 10^5$	$3,00 \times 10^5$	Nd
24	Roscio	$1,30 \times 10^6$	$9,50 \times 10^5$	0,50
25	Roscio	$1,00 \times 10^6$	$7,00 \times 10^5$	5,80
26	Roscio	$4,92 \times 10^6$	$2,00 \times 10^4$	0,70
27	Roscio	$2,25 \times 10^4$	$1,80 \times 10^4$	Nd
28	Mellado	$1,85 \times 10^6$	$2,50 \times 10^5$	0,8
Promedio total		$4,53 \times 10^6$	$3,44 \times 10^6$	2,53

MT: Mohos totales; AF: *Aspergillus flavus*; AFLA: Aflatoxina; Nd: Indetectable

Aspergillus flavus y *F. verticillioides* han sido las especies de mayor frecuencia e incidencia detectadas en muestras de granos de maíz provenientes de varios estados de Venezuela (Chavarri, 2010, Chavarri *et al.*, 2017), y en base a los hallazgos científicos se ha concluido que la invasión del grano por especies fúngicas es un proceso competitivo donde sólo una de las especies será predominante, es decir, cuando hay contaminación alta de *A. flavus*, la incidencia de *F. verticillioides* será baja, y viceversa, al parecer se debe a actividades metabólicas que favorecen el crecimiento de una especie y limitan el crecimiento de la otra (Mazzani *et al.*, 2008; Mazzani *et al.*, 1999; Chavarri *et al.*, 2009).

DetECCIÓN DE AFLATOXINAS

El contenido promedio de aflatoxina fue bajo (2,53ng/g), con un valor mínimo "indetectable" (<0,10ng/g) y un máximo de 56,40 ng/g. El 96,43% (27/28) de las muestras presentaron valores por debajo del límite máximo permitido de aflatoxinas (20 ng/g); sólo el 3,57% (1/28) de las muestras estudiadas excedieron el límite de seguridad de la norma dictada por la FDA (Food and Drug Administration) de EE. UU (Cuadro 1). Contenidos similares de aflatoxinas han sido detectados en muestras de granos de maíz para consumo humano y animal, en investigaciones previas con alta incidencia de especies fúngicas toxigénicas, en diferentes regiones del país (Chavarri, 2010). La alta incidencia de mohos toxigénicos y contenidos de micotoxinas varía con la ubicación geográfica, por ejemplo en el estado Guárico la especie con mayor incidencia fue *F. verticillioides*, especie productora de fumonisinas (Rondón, 2007; Mazzani *et al.*, 2008; Chavarri *et al.*, 2013).

Correlación entre *Aspergillus flavus*, mohos totales y contenido de aflatoxinas

Al realizar la correlación de Pearson con un intervalo de confianza del 95%, se constató que no existen evidencias significativas ($\alpha < 0,05$) de la estimación de la media de concentración de aflatoxinas totales con respecto al conteo de mohos totales y de *A. flavus* (coeficiente de correlación de Pearson = 0), lo que indica la independencia del conteo de la microbiota con la producción de aflatoxinas, ya que no siempre la ocurrencia de *A. flavus* conlleva a la producción de aflatoxinas, en cuanto a que no

todas las cepas de ésta especie son potencialmente toxigénicas, resultados similares se han encontrado en otros trabajos realizados en Venezuela (Mazzani *et al.*, 2004; Raybaudi *et al.*, 2005; Mazzani *et al.*, 2008; Chavarri *et al.*, 2013).

CONCLUSIONES

Dadas las altas concentraciones de mohos totales, de *A. flavus* y los contenidos de aflatoxinas, el estado Guárico se puede calificar como un área de alto riesgo de contaminación con micotoxinas. Esto confirma la necesidad de encontrar híbridos resistentes a la incidencia fúngica y sus micotoxinas debido a que la ingesta periódica de aflatoxinas en dosis bajas tiene un efecto inmunosupresor sobre el organismo, además de ser carcinogénicos, teratogénicos y mutagénicos naturales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela (PG 01-8637-2013/2) por los aportes financieros que hicieron posible la investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarca, M.; M. Bragulat; G. F. Castellá Accensy; J. Cabañes. 2000. Hongos productores de micotoxinas emergentes. *Revista Iberoamericana de Micología* 17: S63-S68.
- Alshannaq, A.; Y. Jae-Hyuk. 2017. Occurrence, toxicity and analysis of major mycotoxins in food. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14: 632-640.
- Barroyeta, J.; M. Chavarri; N. Rumbos; M.J. Garrido; C. Mazzani. 2013. Microbiota toxigénica y aflatoxinas en granos de maíz provenientes de los estados Yaracuy y Guárico, Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 26: 2-6.
- Bastidas, Y.; A. Chassaigne; J. Alezones; A. Hernández. 2015. Comportamiento agronómico y fitopatológico de variantes de maíz (*Zea mays* L.) en los estados Yaracuy y Guárico, Venezuela. *Bioagro* 27: 17-26.

- Brown, R.; Z. Chen; T. Clevenland; J. Russin. 1999. Avances en el desarrollo de huéspedes en maíz resistentes a la contaminación con aflatoxinas de *Aspergillus flavus*. *Phytopatology* 89: 113-117.
- Castellari, C.; M. Cendoya; F. Marcos; V. Barrera; A. Pacin. 2015. Factores extrínsecos e intrínsecos asociados a poblaciones fúngicas micotoxigénicas de granos de maíz (*Zea mays* L.) almacenados en silos en bolsa en Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 47: 350-359.
- Chavarri M.; J. Barroyeta; Y. Ochoa; N. Rumbos; J. Alezones. 2017. Detección de *Fusarium verticillioides* y fumonisinas en granos de maíz blanco provenientes de los estados Yaracuy y Guárico, Venezuela. *Nova Scientia* 9: 171 - 184.
- Chavarri, M. 2010. Contribución al conocimiento de los mohos toxigénicos y micotoxinas en maíz en Venezuela. Trabajo de Ascenso a la Categoría de Profesor Agregado, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. 22 p.
- Chavarri, M. 2014. Incidencia de mohos y aflatoxinas en algunas especies de *Fabaceae*, *Poaceae* y sus derivados. Trabajo de Ascenso a la categoría de Asociado. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. 40 p.
- Chavarri, M.; C. Mazzani; O. Luzón; C. González; J. Alezones; M. J. Garrido. 2009. Mohos toxigénicos y micotoxinas en maíz de grano blanco cosechado bajo riego en los estados Yaracuy y Portuguesa, Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 22: 2 - 7.
- Chavarri, M.; C. Mazzani; O. Luzón; M. J. Garrido. 2012. Detección de hongos toxigénicos en harinas de maíz precocidas distribuidas en el estado Aragua, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 32: 126-130.
- Chavarri, M.; J. González; C. Mazzani; O. Luzón; R. Figueroa. 2013. Efecto de la humedad relativa y del contenido de humedad de los granos de maíz sobre la síntesis *in vitro* de aflatoxinas. *Fitopatología Venezolana* 26: 7-10.
- Chavarri, M.; V. Rojas; N. Rumbos; R. Narcise 2014. Detección de microorganismos en maíz tierno molido comercializado en Maracay, estado Aragua. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 34: 33-37.
- Confederación Nacional de Asociaciones de Productores Agropecuarios. Estadística. Grupo: Cereales. En: <http://www.fedeagro.org/produccion/Rubros.asp>. Acceso 15 junio 2018.
- Duarte, S.; L. Villamil. 2006. Micotoxinas en salud pública. *Salud Pública* 8: 129-135.
- El-Hamaky Y., A.M.; A. H., Atef; H. A, El Yazeed; M. K., Refai. 2016. Prevalence and detection of toxigenic *A. flavus*, *A. niger* and *A. ochraceus* by traditional and molecular biology methods in feeds. *International Journal of Current Research* Vol. 8, Issue, 01, pp.25621-25633.
- García, G.; R. Martínez. 2010. Especies de *Fusarium* en granos de maíz recién cosechado y desgranado en el campo en la región de Ciudad Serdán, Puebla. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 18: 1-10.
- García, G.; R. Martínez; J. Melgarejo. 2001. Inspección para aflatoxinas en el maíz almacenado o transportado en el Estado de Sonora, 1998: Informe Técnico. *Serie Botánica* 72: 187-193.
- García, R.; M. Chavarri; A. Capobianco. 2013. Consecuencias del almacenamiento de granos de maíz y su influencia sobre la Cuantificación de hongos y aflatoxinas en harina precocida integral. *Fitopatología Venezolana* 26: 39-42.
- Lemus, D.; M. Maniscalchi; R. Vera; J. De Freitas; A. Sangermano. 2007. Presencia de Aflatoxinas y hongos aflatoxigénicos en maíz amarillo tipo duro clase I de la zona nororiental de Venezuela. *Saber* 19: 43-49.
- Luzón, O.; M. Chavarri; C. Mazzani; V. Barriento; J. Alezones. 2007. Principales mohos y micotoxinas asociadas a granos de maíz en campos de los estados Guárico, Portuguesa y Yaracuy, Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 20: 25-30.
- Martínez, H.; S. Hernández; C. Reyes; G. Vázquez. 2013. El género *Aspergillus* y sus micotoxinas en México: problemática y perspectiva. *Revista Mexicana de Fitopatología* 31: 126-146.

- Mazzani, C.; O. Borges; O. Luzón; V. Barrientos; P. Quijada. 2000. *Fusarium moniliforme*, fumonisinas y *Aspergillus flavus* en granos de híbridos de maíz en el estado Guárico, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 17: 185-195.
- Mazzani, C.; O. Luzón; M. Chavarri. 2004. *Aspergillus flavus* asociado a *Epitragus* sp. (Coleoptera: Tenebrionidae) en maíz bajo riego en Turén, Estado Portuguesa, Venezuela. *Entomotropica*: 157-159.
- Mazzani, C.; O. Luzón; M. Chavarri; M. Fernández y N. Hernández. 2008. *Fusarium verticillioides* y fumonisinas en maíz cosechado en pequeñas explotaciones y conucos de algunos Estados de Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 21: 18-22.
- Mazzani, E.; O. Borges; O. Luzón; V. Barrientos; P. Quijada. 1999. Incidencia de *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, aflatoxinas y fumonisinas en ensayos de híbridos de maíz en Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 12(1): 9-13.
- Norma Venezolana COVENIN 1337-90. 1990. Alimentos. Método para recuento de hongos y levaduras. Comisión Venezolana de Normas Industriales. 6 p.
- Norma Venezolana COVENIN 2135-96.1996. Norma venezolana para harina de maíz precocida. 4 p.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 1993. El maíz en la nutrición humana. Colección FAO: Alimentación y Nutrición, N°25. Roma. En: <http://www.fao.org/docrep/T0395S/T0395S00.htm>. Acceso 15 junio 2018.
- Peraica, M.; B. Radic; M. Pavlovic. 1999. Efectos tóxicos de las micotoxinas en el ser humano. *Bulletin of the world health organization* 77: 754-766.
- Raybaudi, R.; C. Mazzani; I. Benítez; A. Martínez; O. Luzón; C. González. 2005. Relación entre las concentraciones de hierro, cobre y zinc y la incidencia de *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, aflatoxinas y fumonisinas en maíz. *Fitopatología Venezolana* 18:15-19.
- Rondón, M. 2007. Mohos asociados al maíz (*Zea mays* L.) de cosecha y almacenado procedente del estado Guárico, Venezuela. Trabajo de Grado. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela. 46 p.
- Samson, R.; E. Hoekstra; J. Frisvad; O. Filtenborg. 1995. Introduction a food-borne fungi. 4^a Edition. Centralabureauvoor Schimmelcultures. Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences. 322 p.
- Sartori, M.; A. Nesci; M. Etcheverry. 2015. Infección de *Fusarium verticillioides* y contenidos de fumonisinas en granos de maíz de plantas con inflorescencias femeninas cubiertas y no cubiertas. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNCUYO)* 47: 251-261.
- Singh, K.; J. Frisvad; U. Thrane; S. Mathur. 1991. An illustrated manual on identification of seed-borne *Aspergilli*, *Fusarium*, *Penicillia* and their mycotoxins. 1^{ra} Edition. Denmark: Institute of seed pathology for developing countries. 133 p.
- Yong, R.; M. Cousin. 2001. Cousin Detection of moulds producing aflatoxins in maize and peanuts by an immunoassay. *International Journal of Food Microbiology* 65:27-38.