

Hongos patógenos y micotoxinas en genotipos de maíz (*Zea mays L.*) comercializados en algunos estados del Centro de México

Silvia Denise Peña Betancourt ¹

Resumen. En México, el cultivo de maíz ocupa una superficie de 8 millones de ha y produce 22 millones de toneladas, que son insuficientes para la demanda interna debido a las pérdidas en campo por infestación de hongos patógenos y micotoxinas. El objetivo de este trabajo fue detectar hongos micotoxigénicos, la contaminación simultánea de micotoxinas y el contenido de proteína y lípidos, en un total de 26 genotipos de maíz. La detección de hongos se llevó a cabo bajo el procedimiento estandar microbiológico en placa, la técnica de Espectroscopia de Reflectancia Cercana al Infarrojo (NIRS) para nutrientes y la detección de micotoxinas mediante la técnica de inmunoensayo enzimático (ELISA), y la Cromatografía Líquida acoplada a masas (UHPLC/MS/MS). Los resultados mostraron variaciones en el contenido de nutrientes entre genotipos y lugar de procedencia, sin relación directa con la contaminación de micotoxinas. Se concluye que la calidad nutricional, sanitaria y toxicológica del maíz presenta una variación conforme al genotipo y que la contaminación por hongos fitopatógenos y micotoxinas es un problema emergente que puede ocasionar un problema de salud poblacional. Se recomienda utilizar híbridos de maíz mejorados, adaptados a las condiciones

¹ Departamento de Producción Agrícola y Animal, Laboratorio de Toxicología, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, e mail: spena@correo.xoc.uam.mx

del sitio de producción y realizar un monitoreo periódico de micotoxinas en la semilla para siembra y en el grano almacenado.

Palabras clave: maíz, aflatoxinas, fumonisinas, cambio climático, contaminación.

Abstract. *At the global level, it has been seen that climate change affects the production and quality of agricultural crops. In Mexico, corn is a high consumption cereal whose production reaches 22 million tons, in a cultivated area of 8 million hectares, despite this, corn is insufficient, due among other causes to the losses that occur in the field for fungal infestations. Twenty six samples of maize, of different genotype and place of origin, were collected to determine mycobiota, nutrient content and mycotoxin contamination. The results showed a high protein and lipid content for commercial hybrids, as well as the presence of phytopathogenic fungi. 23 mycotoxins were identified for the first time in corn seed for planting (725.7 µg kg). It is concluded that the nutritional and sanitary quality of maize genotypes has a genotype-medium interaction environment. It is recommended to use improved corn hybrids, adapted to environmental conditions and monitor its sanitary quality since contamination by fungi and mycotoxins constitute a risk to public health.*

Keywords: corn, aflatoxins, fumonisins, contamination.

INTRODUCCIÓN

El cambio climático disminuye la producción y calidad de los alimentos a nivel mundial. México ha previsto un calentamiento de 2°C, principalmente en la región Norte y Centro del país, donde se encuentran los principales estados productores de maíz que, aunado a la presencia de fenómenos naturales como huracanes e inundaciones (fenómeno del niño y la niña) y la escases de agua, afectarán la agricultura nacional (Conde *et*

al., 2006). A pesar de estas nuevas circunstancias, la población mundial deberá disponer de 70% más de alimentos para los próximos 30 años o de lo contrario habrá inseguridad alimentaria, por lo que la agricultura moderna deberá responder a la necesidad actual de producir un mayor volumen de cereales (FAO, 2009).

En México, el cultivo de maíz (*Zea mays L.*) ocupa una superficie de 8 millones de ha, con una producción aproximada de 22 millones de toneladas, con un déficit de 11 millones de toneladas al año (Corral *et al.*, 2015), por pérdidas del cultivo en campo, ocasionadas por infestación de plagas, principalmente de hongos fitopatógenos, cuya presencia se favorece por insectos e intensas lluvias o sequía.

Fusarium sp. es un hongo endófito del maíz, de gran virulencia, que ocasiona pudrición de la mazorca, decoloración en el grano y reduce la cosecha (Busch *et al.*, 2004; USDA, 2013). Se han estimado pérdidas anuales de 20% por Fusariosis o podredumbre de la mazorca (Peiretti *et al.*, 2007).

Fusarium verticillioides (Sacc) y *Fusarium proliferatum* producen fusariotoxinas, que son micotoxinas de bajo peso molecular y altamente estables a los procesos industriales; entre ellas destacan las fumonisinas, que son químicamente aminopolioles y cuya estructura principal consiste en una cadena lineal de 20 átomos de carbono, la cual tiene un grupo amino en el carbono 2, junto con grupos metilo, hidroxilo y ácido tricarbóxico en diferentes posiciones a lo largo del esqueleto carbonado. En este grupo se encuentran también la zearalenona, T-2, DON, culmorina, enatianina, Diacestoxiscirpenol (DAS), ácido fusárico (AF), T-2, HT-2 (Abbas *et al.*, 2006).

El género *Aspergillus sp.* es un hongo cosmopolita que permanece en el suelo agrícola que puede ser desplazado por otros hongos de mayor resistencia, sin embargo, *Aspergillus flavus* puede crecer bajo condiciones cálidas de temperatura, estrés hídrico y alta densidad de insectos, de acuerdo con Clements *et al.*, 2004.

La contaminación por micotoxinas se asocia a un mal manejo de la planta durante su desarrollo en campo, como puede ser la fecha de siembra, la falta de agua (sequía) y la presencia de insectos tales como *Diatraea grandiosella* Dyar, *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa zea* Boddie, que actúan como vehículos de las esporas de hongos patógenos presentes en el suelo agrícola, además por la falta de higiene en el almacenamiento (control de roedores), una temperatura de 35 °C y un defectuoso secado del grano previo a su almacenamiento, un alto contenido de humedad en el almacén (mayor a 14%) y un almacenamiento prolongado (mayor a tres meses) (Kumar *et al.*, 2008).

México ha realizado diversos estudios sobre mejoramiento genético, principalmente de los híbridos de maíz nativo, logrando el desarrollo de nuevos genotipos producto del entrecruzamiento de una, dos y hasta tres líneas genéticas puras: los cuales han sido adoptados por diversos productores de maíz en todo el territorio nacional. El Centro Internacional de maíz y trigo (CIMMYT) ha desarrollado híbridos de maíz con un mayor contenido de proteína llamados *QPM*, por sus siglas en inglés (Quality Protein Maize), que poseen un alto contenido en lisina y metionina (CIMMYT, 1998). La Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), junto con el Instituto de investigaciones agrícolas, pecuarias y forestales (INIFAP) y el Cinvestav, también han desarrollado nuevos híbridos de maíz resistentes a plagas y con mayor rendimiento por ha; todos ellos adaptados a las condiciones del trópico y subtrópico del país (Vivek *et al.*, 2008).

En los Estados Unidos, entre otros países, han adoptado los avances de la ingeniería genética que introduce en el germoplasma del maíz genes de bacterias, como *Bacillus thuringiensis Berliner* (BT), que expresan la proteína Cry1Ab, entre otras, para lograr una mayor resistencia a insectos (Espinosa *et al.*, 2003). En nuestro país esta tecnología se ha limitado a ciertas zonas agrícolas del Norte y después de varios años de intensos debates (Paul *et al.*, 2010; Peña, 2015; Espinosa *et al.*, 2014).

Las micotoxinas poseen potentes efectos tóxicos para el hombre, ya que provocan hepatotoxicidad y genotoxicidad. En los animales mamíferos se ha observado un efecto sobre el sistema inmunológico. También la contaminación por micotoxinas repercute en la calidad nutricional y valor comercial del alimento (Duarte y Villamil, 2006). Los efectos tóxicos de las fumonisinas en la salud humana han sido detectados desde el siglo pasado, surgiendo desde entonces una intensa investigación a nivel mundial. Actualmente, se conoce su mecanismo de acción tóxica y los órganos que afecta, siendo principalmente el hígado, los pulmones y el sistema inmunológico (Li *et al.*, 2001). Estudios epidemiológicos llevados a cabo en Sudáfrica y Asia han mostrado la relación entre el alto consumo de maíz y arroz contaminado con fumonisinas y el alto índice de defectos en el tubo neural. En la población México-Americana residente en los Estados Unidos, también se ha concluido que la exposición a las fumonisinas en mujeres gestantes es factor de riesgo para los defectos al nacimiento como lo descrito por Hendricks (2006).

La Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC) clasificó a las fumonisinas como clase 2B, es decir, sustancias presuntamente cancerígenas para el hombre (IARC, 1993); por lo que la regulación de las fumonisinas ha sido adoptada en diversos países, con exclusión de México. El Codex Alimentario (Códex Alimentarius Commission 2003), estableció como dosis de referencia 2 $\mu\text{g kg}$, para la ingesta diaria (IDA) de fumonisinas.

Las aflatoxinas pertenecen a la familia de las difurano-cumarinas, A la serie 1 de las difuro-cumaro-ciclo-pentanonas pertenecen las AFB1, AFB2, AFB2A, AFM1, AFM2, AFM2A que son las de mayor toxicidad. En los animales mamíferos, las aflatoxinas inhiben el metabolismo de carbohidratos y lípidos y la síntesis de proteína, que al llegar al hígado sufren una biotransformación por el sistema microsomal P450 (CYP1A2, 3A4, 3A5 y 3A7), hasta una nueva molécula AFB1-N- epóxido, que es el compuesto genotóxico, es decir, el promotor de cáncer de acuerdo con Urrego y Díaz (2006).

En México se encuentra regulada la presencia de aflatoxinas en el maíz y derivados, como la tortilla y la leche, en un máximo de 20 $\mu\text{g kg}$ para el maíz sin procesar y 10 $\mu\text{g kg}$ en maíz procesado (Norma Oficial Mexicana NOM-187-SSA1/SCFI-2002). En la Unión Europea, el límite máximo de aflatoxinas totales es de 4 $\mu\text{g kg}$, en Chile y Brasil es de 5 $\mu\text{g kg}$ (EFSA, 2007; Ministerio de Salud de Chile, 2007).

Existen varios métodos para extraer e identificar los hongos y micotoxinas, entre los cuales destacan los ensayos microbiológicos en placa, actualmente el KSA por sus siglas en inglés (Kernel screen assay), método que ayuda a seleccionar los genotipos resistentes al hongo *Aspergillus flavus* y la contaminación por aflatoxinas. Esta técnica *in vitro* fue desarrollada por Brown *et al.*, 2003.

La extracción de las micotoxinas se basa en solubilidad, las aflatoxinas son solubles en metanol, acetonitrilo y agua, como lo indica Saeger *et al.*, 2006.

Los métodos cromatográficos, como la técnica de cromatografía de capa fina de alta resolución o HPTLC, por sus siglas en inglés (*High Performance Thin Layer Chromatography*), es fácil, económica y amigable con el ambiente, debido a la menor utilización de disolventes orgánicos y menor tamaño de muestra, además de muy segura para el analista, comparada con la cromatografía líquida de alta resolución, acoplada a un detector de fluorescencia o HPLC/FLD, por sus siglas en inglés, la cual es muy sensible, sin embargo, requiere de personal entrenado y de disolventes de alta pureza o grado HPLC, generalmente se utiliza la columna C18 en fase reversa, por lo que el costo del análisis se incrementa, actualmente la ultra cromatografía líquida acoplada a un detector de masas (UHPLC/MS/MS) es la mejor técnica para la investigación de las micotoxinas enmascaradas o micotoxinas conjugadas, las cuales no son posibles de ser identificadas mediante la HPLC-UV ó HPLC-FLD. Entre los métodos basados en las reacciones inmunoquímicas, la técnica de tiras de flujo lateral (IFL) y los ensayos de inmunoabsorción enzimática (ELISA) son tecnologías muy sensibles y reproducibles que se utilizan

para realizar monitoreos rápidos de micotoxinas que pueden presentar resultados falsos positivos y requerir de una confirmación (Bird, 2002; Peña, 2006).

El objetivo del presente estudio fue determinar la calidad nutricional y sanitaria de 26 genotipos híbridos de maíz (dos de ellos como semilla), procedente de tres zonas de cultivo en México de la región Central del territorio nacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de muestras

Diez mazorcas de maíz fueron donadas por pequeños productores del estado de Hidalgo (Tlaxcoapan). 1 kg de grano por pequeños productores de la zona metropolitana de la Ciudad de México (Chalco, Ixtlahuaca y Xalpa; y 1 kg de la semilla protegida por el Instituto de Investigaciones Agrícolas y Forestales (INIFAP) del estado de Morelos. Todas las muestras se trasladaron al laboratorio de Toxicología del Departamento de Producción Agrícola y Animal de la UAM-Xochimilco para su análisis. El grupo A, compuesto por las muestras de semilla protegida del estado de Morelos; el grupo B, por muestras de maíz nativo de la CDM, y el grupo C, por muestras de maíz híbrido comercial del estado de Hidalgo.

Detección de la flora fúngica

Tres muestras de maíz blanco trilineal, de madurez precoz e intermedia del grupo C, fueron seleccionadas para determinar la presencia de la flora fúngica, para lo cual se seleccionaron al azar 100 granos de cada muestra, que se desinfectaron con hipoclorito de sodio (NaCl 2%) y se colocaron en cajas de petri con tres medios de cultivo: malta agar (MA),

malta-sal-agar (MSA) y agar papa dextrosa (PDA); las placas se incubaron durante siete días a 25° C. La identificación de las colonias se realizó mediante la tinción de azul de lactofenol y al microscopio de luz, mediante la observación de las estructuras microscópicas de cada colonia, las que se contabilizaron y el resultado se expresó como UFC/g.

Análisis de proteína

Se realizó un análisis de proteína, lípidos y fibra mediante la técnica de Espectroscopia de Reflectancia Cercana al Infrarrojo (*NIRS*), en una longitud de onda de 1200 a 2350 nm.

Determinación de Aflatoxinas totales

Las aflatoxinas totales en los granos de maíz se determinaron mediante la técnica de inmunoensayo enzimático (*ELISA*) *Ridascreen fast aflatoxin* comercial, y dos muestras de maíz blanco para siembra (semilla), fueron analizadas por la técnica de *UHPLC/MS/MS*, de acuerdo con el protocolo del laboratorio de la Dra. Saeger, de la Universidad de Gante en Bélgica.

Aislamiento e identificación de Fumonisinas totales

El análisis de las Fumonisinas (FB1, FB2, FB3 y FB4) se realizó mediante un kit comercial de *QuickTox TM* y su cuantificación con *QuickScan (Envirologix)*, de acuerdo con Wong y Harley, (2009). Se pesaron 5 g de cada muestra y se procedió a una extracción con 50 mL de una solución amortiguadora o PBS; la suspensión se mezcla en un vórtex por dos minutos y el sobrenadante se coloca en la tira inmunológica, la presencia de fumonisinas se indica al observar dos líneas en la tira, una de ellas corresponde a la presencia de fumonisinas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del aislamiento e identificación de hongos se presentan en el cuadro 1, en donde se puede observar que la microbiota se compone principalmente de hongos con capacidad micotoxigénica, como son los géneros *Penicillium sp.*, *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.* y *Aspergillus sp.* La cuenta total de hongos fue de 1.2×10^3 , y 2.5×10^3 UFC/g, sin que se encontraran diferencias significativas entre los medios de crecimiento utilizados.

El contenido de proteína y lípidos se presentan en el cuadro 2, donde se observan los resultados para los grupos de maíz evaluados. Para el grupo C, se observó el mayor contenido de nutrientes en comparación con los genotipos del grupo A y B, lo cual se explica por ser producto de entrecruzamiento de las mejores líneas genéticas. Por otro lado, las variaciones detectadas en el contenido de proteína y lípidos entre los híbridos analizados en este estudio concuerdan con lo encontrado por Gallardo *et al.* (2006) y García y Martínez (2010), en maíces recién cosechados y desgranados en otros estados del centro del país.

La presencia de micotoxinas detectadas en los grupos de genotipos evaluados se pueden observar en el cuadro 3, donde se observa que 25% de las muestras de maíz (grupo A) presentaron aflatoxina B1 en un nivel de $4.2 \mu\text{g kg}$, y en 38% presentaron fumonisinas con un nivel de $1.09 \mu\text{g kg}$, y en el resto (60%) con niveles de $0.23 \mu\text{g kg}$. En las muestras de maíz (grupo B), 42% se encontraron contaminados con aflatoxinas en un nivel de $3.2 \mu\text{g Kg}$ y 50% con fumonisinas a un nivel de $0.20 \mu\text{g kg}$, y para el grupo C, 25% de las muestras contaminadas con aflatoxina B1, en un nivel de cinco $\mu\text{g kg}$, zearalenona en un contenido de $820 \mu\text{g kg}$ y T2 con $460 \mu\text{g kg}$.

En dos muestras del grupo B, que fueron detectadas con la técnica de UHPLC/MS, se detectaron aflatoxinas totales (AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂) en un nivel de $30 \mu\text{g kg}$ y de ocho $\mu\text{g kg}$ de aflatoxina B1; así como, 23 fusariotoxinas en un contenido promedio de $725.7 \mu\text{g kg}$, siendo el

ácido micofenólico el de mayor frecuencia (55%) y de mayor contenido (530.7 $\mu\text{g kg}$), 20.58% correspondieron a los trichotecenos A and B (Nivalenol, DON, NEO, Fusarenona X, DAS, HT-2, T2, Zearalenona, Zearalenol), 13.77% a las Fumonisinas (FB1, FB2, FB3 y FB4), y 24% restante a la Ochratoxina A con 8.90 $\mu\text{g kg}$, Sterigmatocystina con un nivel de 5 $\mu\text{g kg}$, Roquefortine C con 3 $\mu\text{g kg}$, Enantina con 8.65 $\mu\text{g kg}$, alternariol 17.4 $\mu\text{g kg}$, methyl-alternariol 16.7 $\mu\text{g kg}$.

La contaminación por micotoxinas encontrada en este estudio, es especial por aflatoxinas y es similar a la contaminación detectada en regiones de clima cálido seco y de economía emergente, como lo descrito por Njobeh *et al.* (2012), de tal manera que permite asegurar que el medio ambiente del maíz en campo y las prácticas agrícolas son factores condicionantes a la expresión de genes de híbridos con tolerancia a las enfermedades fúngicas, por lo que la presencia de *Aspergillus* está directamente relacionada con la contaminación por aflatoxinas, además de causar deterioro en el cultivo. También la resistencia de los granos de maíz (*Zea mays*) surge como una estrategia de prevención de la infección por *Aspergillus flavus* y/o la acumulación de las aflatoxinas. Se ha sugerido que la resistencia post-cosecha a la contaminación por aflatoxinas en algunos granos de maíz se relaciona directamente con la actividad metabólica de los embriones viables (Clements y White, 2005).

Los maíces híbridos comerciales del estado de Hidalgo se encontraron fuera de la regulación internacional para aflatoxina B₁ que es de cinco $\mu\text{g kg}$., lo que indica que los híbridos utilizados en este lugar no son los ideales para expresar su resistencia a enfermedades y micotoxinas. Es conveniente recordar que un almacenamiento inapropiado puede contribuir a magnificar la contaminación procedente del campo, como lo observado por Trombete *et al.* (2013).

La presencia múltiple de micotoxinas en los híbridos de maíz del grupo C, observado en este estudio, coincide con la diversidad de hongos que fueron aislados e identificados en la microbiota, por lo que estos hongos pudieron sintetizar más de una micotoxina. Tal es el caso del

ácido micofenólico, que es sintetizado por el hongo *Penicillium sp.*, las aflatoxinas por *Aspergillus sp* y los tricotecenos por distintas especies de *Fusarium*, igualmente observado por Kumar *et al.* (2008), que demostraron una diversidad de hongos fitopatógenos de la microbiota en diversos alimentos comerciales. Se demostró la presencia de las micotoxinas conjugadas como DON-glucósido y Zea-glucósido, las cuales son micotoxinas recientemente descubiertas y de las que se está investigando su toxicidad, ya que hasta el momento sólo se ha reportado su capacidad para disminuir la respuesta inmunológica en los animales de laboratorio.

Con base en los resultados obtenidos, es indispensable mejorar las estrategias de control de hongos y micotoxinas en México para evitar la disminución de la productividad en el campo y asegurar la demanda del consumidor nacional, posiblemente utilizando métodos biotecnológicos para el control de hongos (Brown *et al.*, 2003); mediante buenas prácticas de cultivo (Ministerio de salud de Chile, 2007) o realizar estudios previos *in vitro* para detectar la susceptibilidad de los genotipos de maíz a la acumulación de aflatoxinas (Betran *et al.*, 2005). Así como establecer un control de micotoxinas, a través de muestreos periódicos y estableciendo su regulación con el objeto de garantizar la inocuidad de la semilla y del grano, de tal forma que pueda evitarse un posible daño irreversible, como es el desarrollo de cáncer, ya que se conoce que una dosis de 10 ng g de AFB₁ es suficiente para producir una mutación en el ADN de las células de especies mamíferas, por lo que se aconseja una reevaluación de la dosis máxima permitida para aflatoxinas en la legislación nacional. También es conveniente recordar que las cantidades permisibles de una micotoxina no garantiza la inocuidad del alimento, ya que como se observó en el estudio generalmente las micotoxinas se presentan en mezclas, es decir, en combinación simultánea, por lo que puede ocurrir un efecto aditivo o sinérgico, es decir, un efecto que potencialice la toxicidad individual.

Por ello, es necesario realizar estudios que puedan ayudar a comprender si las fumonisinas pueden favorecer la resistencia a la insulina

y la Diabetes tipo 2, ya que se conoce que las fumonisinas ocasionan un desequilibrio enzimático, a nivel de la ceramida, dentro de la síntesis de los esfingolípidos, de acuerdo con Babenko *et al.* (2015).

CONCLUSIONES

En este estudio se demostró la presencia de *Aspergillus sp* y *Fusarium sp*, hongos patógenos en maíces comercializados en el tres zonas agrícolas de la región Central de México, los cuales podrán sintetizar micotoxinas bajo condiciones ambientales que les sean favorables. Se identificó la contaminación simultánea de Aflatoxinas y Fumonisinas en niveles dentro de la regulación nacional para aflatoxinas. Se identificó la presencia de 21 micotoxinas en la semilla de maíz protegida para siembra, por lo que la presencia de micotoxinas es subestimada regularmente en los análisis realizados con técnicas inmunológicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, K. *et al.*, 2006, "Aflatoxin and fumonisin contamination of maize (maize, *Zea mays*) hybrids in Arkansas", en *Crop Prot*, (25):1-9.
- Babenko, A. y S. Kharchenko, 2015, "Effects of inhibitors of key enzymes of sphingolipid metabolism on insulin-induced glucose uptake and glycogen synthesis in liver cells of old rats", en *Biochemistry Moscow* 80: 104. doi:10.1134/S0006297915010125
- Betrán, J. *et al.*, 2005, "Breeding corn to reduce aflatoxin contamination", en H. Abbas (Ed.), *Aflatoxin and food safety*, Boca Raton, Taylor & Francis, Florida, USA.
- Bird, B., 2002, "Determination of total fumonisins in corn by competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay: Collaborative study", en *Journal of the AOAC International* (85): 404-410.

- Brown, L. *et al.*, 2003, "Using biotechnology to enhance host resistance to aflatoxin contamination of corn", en *African Journal of Biotechnology* 2: 557-562.
- Bush, J. *et al.*, 2004, "Infection and fumonisin production by *Fusarium verticillioides* in developing maize kernels", en *Phytopathology* (94): 99-93.
- Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), 1998, A complete listing of improved maize germplasm from CIMMYT. Maize Program Special Report. D. F., México.
- Codex Alimentarius Commission, 2003, Code of practice for the prevention and reduction of mycotoxin contamination in cereals, including annexes on ochratoxin A, zearalenone, fumonisins and trichothecenes (CAC/RCP 51-2003), en *Prevention and Reduction of Food and Feed Contamination*, FAO, WHO: Rome, Italy.
- Conde, C. *et al.*, 2006, "Climate change and climate variability impacts on rainfed agricultural activities and possible adaptation measures a Mexican case study", en *Atmosphere* 19(3): 181-194.
- Corral, A. *et al.*, 2015, "Cambio climático y sus implicaciones en cinco zonas productoras de maíz en México", en *Rev. Mex. Cien. Agrí* 2: 309-323.
- Clements, J. y D. White, 2005, "Identifying sources of resistance to aflatoxin and fumonisin contamination in corn grain: history and progress from the University of Illinois", en H. Abbas (Ed.), *Aflatoxin and food safety*, Taylor & Francis, Boca Raton, FL.
- Clements, J. *et al.*, 2004, "Sources of resistance to fumonisin accumulation in grain and fusarium ear and kernel rot corn", en *phytopathology* 94: 252-260.
- Diario Oficial de la Unión Europea (CE) 1126/2007, *Reglamento de la comisión que modifica el Reglamento (CE) 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios por lo que se refiere a las toxinas de Fusarium en el maíz y los productos del maíz*. Bruselas, 2007, en: <http://www.aesan.msps>.

es/CNA/docs/docs/laboratorio_nacional_referencia/control_micotoxinas /legislacion/reglamento_1126_2007.pdf, consultado 18/02/17.

- Duarte, S. y C. Villamil, 2006, "Micotoxinas en la salud pública", en *Rev. Salud Púb.* (1): 129-135.
- European Food Safety Authority /EFSA), 2007, "Opinion of the scientific panel on contaminants in the food", en *The EFSA Journal* 446: 1-27.
- Espinosa, A. *et al.*, 2003, "Producción y tecnología de semillas mejoradas de maíz por el INIFAP", en *Agron. Mesoam.* (14): 117-121.
- Espinosa, A. *et al.*, 2014, "Ley de semillas y ley federal de variedades vegetales y transgénicos de maíz en México", en *Rev. Mex. Cienc. Agríc* (5)2, feb-marzo.
- FAO (Food and Agriculture Organization), 2009, *Global agriculture towards 2050: A third more mouths to feed*, Roma.
- Gallardo, E. *et al.*, 2006, "Micobiota de maíz (*Zea mays* L.) recién cosechado y producción de fumonisina B1 por cepas de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb", en *Rev. Mex. Fitopat* (1): 27-34.
- García, G. y R. Martínez, 2010, "Especies de fusarios en granos de maíz recién cosechado y desgranado en campo en la ciudad de Puebla", en *Rev Mex de Biodiv.* 81(1): 15-20.
- Hans van, E. y D. Park, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, ISBN: 978-90-8686-007-4.
- Hendricks, A., 2006, "Exposure to fumonisins and the occurrence of neural tube defects along the Texas-Mexico border", en *Environmental Health Perspectives* 114(2): 237-241.
- International Agency for Research on Cancer (IARC), 1993, "Toxins derived from *Fusarium moniliforme*: fumonisins B1 and B2 and Fusarin C.", en *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans*, World Health Organization, Lyon 56: 445-466.
- Kumar, V. *et al.*, 2008, "Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities", en *Crop Protection* (6): 891-905.

- Li, Q. *et al.*, 2001, "Aflatoxins and fumonisins in corn from the high-incidence area for human hepatocellular carcinoma in Guangxi, China", en *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(8): 4122-4126.
- Ministerio de Salud de Chile, Departamento de Alimentos y Nutrición, 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, 2007, 1: 36.
- Njobeh, B. *et al.*, 2012, "Estimation of multi-mycotoxin contamination in South African compounds feeds", en *Toxins* (4): 836-848.
- Norma Oficial Mexicana NOM-187-SSA1/SCFI-2002, Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba.
- Paul, W. *et al.*, 2010, "Aflatoxin Accumulation in BT and Non-BT Maize Testcrosses", en *Journal of Crop Improvement* (24): 392-399.
- Peiretti, D. *et al.*, 2007, "Susceptibilidad a *Fusarium verticillioides* (SACC.) Nirenberg en la población de maíz MPB-FCA 856", en *Agronomía Mesoamericana* 18(2): 171-176.
- Peña, S., 2006, "Detection of fumonisins in maize (*Zea mays L.*) by three analytical techniques (HPLC, TLC and ELISA)", en H. Njapau y S. Trujillo (Eds.), en *Mycotoxins and Phycotoxins Advances in determination, toxicology and exposure management*. .
- Peña, S., 2015, "Transgene detection (35S y NOS), physical quality, tannins and mycotoxins in maize by human consumption in Mexico", en *Trends in the development and application of educational research in Mexico*, Editorial Center for studies and research for teacher development Cenid, Primera Edición, Guadalajara, México, ISBN: 978-607-8435-02-9.
- Polanski, S., 2015, "Quicktox TM kit for fumonisins", en *J. AOAC Intern.* (6): 1571-1584.
- Saeger, D., *et al.*, 2006, "Novel developments in rapid mycotoxin detection", en *Mycotoxin Res.* (22): 100-4.

- Trombete, M. *et al.*, 2013, "Aflatoxinas y tricotecenos en trigo y derivados: incidencia de la contaminación y métodos de determinación", en *Rev Ch Nutr.* 40(2): 181-188.
- Urrego, J. y G. Díaz, 2006, "Aflatoxinas: Mecanismos de toxicidad en la etiología de cáncer hepático celular", en *rev.fac.med.* 54(2).
- USDA, 2013, Agricultural Statistics Annual, table 1-41 International Corn: Area, yield, and production in specified countries, en http://www.nass.usda.gov/Publications/Ag_Statistics/2012/chapter01.pdf, consultado 25/04/2017.
- Vivek, B. *et al.*, 2008, *Mejoramiento de maíz con calidad de proteína QPM: Protocolos para generar variedades QPM*, Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo CIMMYT, México.
- Wong, R. y Y. Harley, 2009, *Lateral Flow immune essay*, Springer, Humana Press, Nueva York, USA.