

**Penicillium EN MAÍZ PARA CONSUMO HUMANO: PROBLEMA DE BIODETERIORO
Y RIESGO MICOTOXIGENO POTENCIAL**

por Genoveva García Aguirre* y
Rebeca Martínez Flores*

**Penicillium IN CORN FOR HUMAN CONSUMPTION: BIODETERIORATION
PROBLEM AND MYCOTOXINOGENESIS RISK**

SUMMARY

Fifty Penicillium isolates from 90 corn samples were identified to species following Pitt's method; the 12 identified species belong in the four Penicillium subdivisions. In 72 of the samples the contamination levels were below 16%, however, in 10 of them the contamination levels reached 32.7%. Among the species identified some are considered as storage species, others are field species, and others yet belong to the non assigned category accordingly to Mislivec and Tuite. All the species identified are reported to produce mycotoxins, whether in nature or in the lab, and 10 of them produce one or more of the Penicillium mycotoxins isolated from naturally contaminated corn. In this work, mycotoxins were not determined, however, the implications of their presence in corn are discussed.

RESUMEN

Cincuenta aislamientos de Penicillium, obtenidos de 90 muestras de maíz para consumo humano, fueron identificados a especie siguiendo el método propuesto por Pitt; las 12 especies determinadas pertenecen a las cuatro subdivisiones de Penicillium; en 72 muestras los niveles de contaminación fueron menores de 16% pero en 10 de dichas muestras estos niveles llegaron a 32.7%. De las especies identificadas, algunas son consideradas especies de almacén, otras de campo y otras más no están colocadas en estas categorías, según Mislivec y Tuite. Todas las especies identificadas están reportadas como micotoxígenas y 10 de éstas producen una o más de las toxinas de Penicillium en maíz en condiciones naturales. En este trabajo no fueron determinadas micotoxinas, pero se discuten las implicaciones de su presencia en maíz.

INTRODUCCIÓN

En los granos de maíz es común encontrar diferentes mohos, parásitos o saprobios, que pueden invadirlos desde que se están formando en el campo o durante la cosecha, el transporte, el almacenamiento o la utilización de los mismos.

* Instituto de Biología, UNAM. Apartado Postal 70-230, Coyoacán
04510 México D.F., México.

Algunos de los mohos aislados de maíz están reportados como productores de micotoxinas, muchas de las cuales han sido encontradas en este producto en condiciones naturales, por lo que la presencia de mohos en este sustrato es un problema que no debe ser subestimado.

A pesar de que en la mayoría de los países del mundo existen tolerancias para limitar la presencia de micotoxinas, o por lo menos de aflatoxinas en algunos alimentos, no existen normas para evaluar la seguridad de los mismos cuando están contaminados con mohos, ni tampoco existen criterios o referencias específicas al respecto (Schuller *et al.*, 1983; Hitokoto *et al.*, 1984).

Entre los mohos reportados como productores de micotoxinas en maíz, los más importantes, tanto por la cantidad y variedad de las toxinas que producen, como por la importancia y toxicidad de las mismas, están *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, y parece ser que este último es el que produce mayor diversidad de toxinas en condiciones naturales.

Penicillium es un género muy versátil y cosmopolita, con gran capacidad para producir metabolitos secundarios entre los que se encuentran cerca de 50 micotoxinas diferentes, cuya distribución es universal; entre éstas, las ocratoxinas, el ácido penicílico y la patulina tienen potencial cancerígeno demostrado; la citreoviridina, luteosquirina, citrinina y cicloclorotina, han sido asociadas con enfermedades como el beriberi cardíaco, alteraciones nerviosas y circulatorias, y alteraciones de riñón e hígado; otras micotoxinas para las que existe evidencia toxicológica que puede indicar daños sanitarios potenciales son: el ácido ciclopiazónico, la islanditoxina, el penitremo A, la toxina PR, la roquefortina, la rubratoxina, la rugulosina y el verruculógeno entre las más conocidas (Ciegler *et al.*, 1971; Frisvad, 1984; Moss, 1971; Saito *et al.*, 1971; Steyn, 1971; Stoloff, 1979; Wilson, 1971).

Según Pitt (1979), las especies de *Talaromyces* no son toxigenas y las de *Eupenicillium* raramente lo son; pocas especies de *Aspergilloides* y de *Furcatum* producen micotoxinas pero éstas son comunes entre las especies de *Biverticillium*, y todas las especies de *Penicillium* producen micotoxinas con excepción, tal vez, en opinión de Pitt, de *P. chrysogenum*.

Las especies de *Penicillium* reportadas como productoras de micotoxinas son comunes en granos almacenados y alimentos procesados; muchas de éstas se han aislado de maíz. Mislivec y Tuite (1970a) establecieron varias categorías: a) especies de campo: *P. oxalicum*, *P. funiculosum*, *P. cyclopium*, *P. variabile* y *P. citrinum*; b) especies de almacén: *P. cyclopium*, *P. brevicompactum*, *P. viridicatum* y *P. palitans*, y c) un grupo especies no asignadas, en sus propios términos, por haber sido aisladas con muy poca frecuencia: *P. frequentans*, *P. chrysogenum*, *P. purpurogenum*, *P. expansum*, *P. urticae*, *P. puberulum*, *P. digitatum*, *P. steckii*, *P. janthinellum*, *P. charlesii*, *P. luteum*, *P. granulatum* y *P. multicolor*.

En México existen trabajos que reportan diversas especies de Aspergillus en granos de maíz y otros productos con actividad de agua similar, y su posible importancia en la sanidad de los alimentos (García y Martínez, 1985; Martínez y García, 1989); sin embargo, los resultados de identificación a especie de Penicillium con este mismo criterio son escasos (García y Martínez, 1989).

Con base en lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue conocer las especies de Penicillium que se desarrollan en el maíz destinado al consumo humano, en la Ciudad de México y discutir su posible significado desde el punto de vista sanitario de los alimentos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamientos. Cincuenta aislamientos de Penicillium obtenidos de 90 muestras de granos de maíz amarillo para consumo humano fueron purificados en Czapek- agar.

Identificación. La identificación de las especies se hizo siguiendo el método y criterios propuestos por Pitt (1979). Para cada aislamiento se usaron 5 cajas de Petri con los siguientes medios de cultivo y condiciones de incubación: Czapek autolisado de levadura agar (CYA), Extracto de malta agar (EMA) y Glicerol 25 % nitrato agar (G25N) incubando a 25°C, y CYA a 37°C y a 5°C. El periodo de incubación fue de 7 días.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El porcentaje de granos invadidos por Penicillium en cada una de las muestras se observa en la figura 1; estos datos sugieren que la contaminación con Penicillium podría considerarse despreciable desde el punto de vista del deterioro que pueden causar al grano, ya que en más de 80% de las muestras (columnas 1 a 4) los niveles de contaminación fueron inferiores a 16% de los granos, y en 30% de las muestras (columna 1) el nivel máximo de granos contaminados fue de casi 4%. Sin embargo, en 11% de las muestras, los porcentajes de granos contaminados fueron de hasta 32.7% (límites 24.6 a 32.7%) (columnas 7 y 8), lo que plantea riesgos de biodeterioro que pueden reflejarse como mermas cuantitativas y cualitativas importantes. Por otro lado, la presencia de Penicillium, aun en niveles bajos, debe ser analizado con cuidado debido al riesgo sanitario potencial que este género puede representar con relación a la contaminación con micotoxinas, que pudiesen haber sido formadas en las diferentes fases de la producción y comercialización del grano, a pesar de que la presencia de mohos micotoxigenos no implique necesariamente la presencia de micotoxinas.

La contaminación del grano con este hongo pudo haber sido en el campo como resultado de pudriciones avanzadas de mazorca, que están reportadas como inducidas principalmente por P. oxalicum, aunque otras especies, incluyendo P. chrysogenum, P. glaucum, P. notatum y P. funiculosum también las inducen (Shurtleff, 1980; Tuite, 1961;

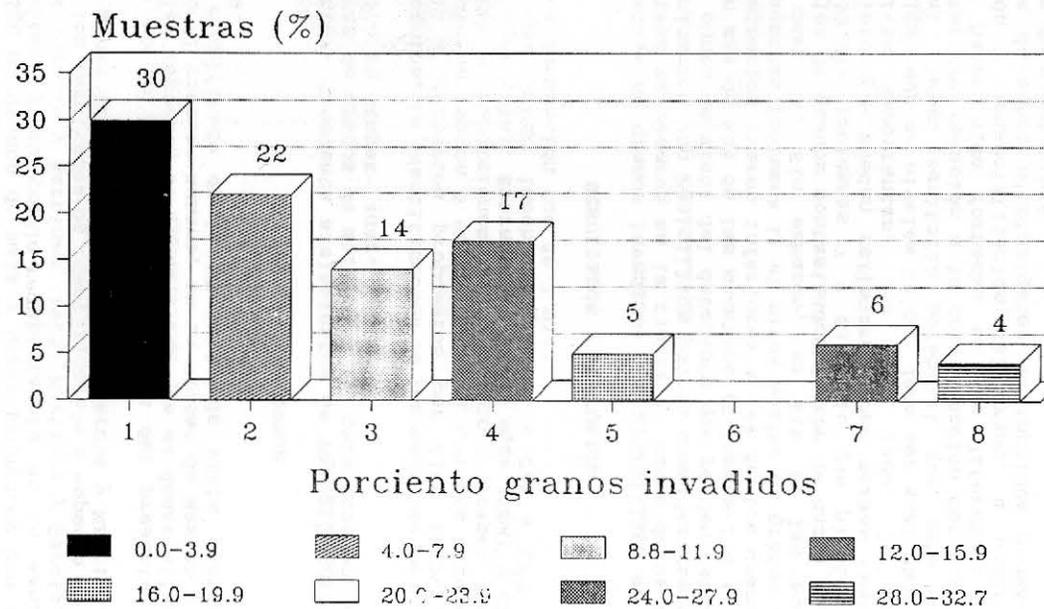


Figura 1. Porcentaje de granos invadidos por *Penicillium*.

Koehler, 1959). Mislivec y Tuite (1970a) reportan a *P. oxalicum*, *P. funiculosum*, *P. cyclopium*, *P. variabile* y *P. citrinum* como *Penicillia* de campo, por la regularidad o frecuencia con la que las aislaron. De las especies mencionadas, en este trabajo fue identificado 1 aislamiento de *P. oxalicum*, 8 de *P. expansum* (= *P. variabile*), 13 de *P. aurantiogriseum* (= *P. cyclopium*) y 10 de *P. chrysogenum*, lo que sugiere que las muestras provenían de maíz recién cosechado o almacenado con contenidos de humedad muy altos, por arriba de 18%, que es una práctica frecuente. Otra posibilidad con relación a la fuente de contaminación es que los lotes de los que fueron obtenidas las muestras estuviesen mezclados y que parte del grano proviniese de lotes mal almacenados, ya que este género en granos almacenados está condicionado a factores muy específicos de temperatura y humedad, tanto en el campo como en el almacén (Mislivec y Tuite, 1970b; Justice y Bess, 1970). Entre las especies de *Penicillium* más comunes que inducen pudriciones de granos almacenados están: *P. cyclopium*, *P. brevicompactum*, *P. palitans* y *P. funiculosum* (Litchwardt et al., 1959; Mislivec y Tuite, 1970a); las especies y el número de aislamientos de este grupo en el presente trabajo fueron 1 de *P. brevicompactum*, 6 de *P. viridicatum* (= *P. palitans*), 13 de *P. aurantiogriseum* (= *P. cyclopium*). Otras especies aisladas fueron *P. glabrum* (= *P. frequentans*), 2 aislamientos; *P. simplicissimum*, 1 aislamiento; *P. purpurogenum*, 1 aislamiento, y *P. puberulum*, 2 aislamientos, que forman parte del grupo de especies clasificadas por Mislivec y Tuite (1970a) como no asignadas por su baja frecuencia, lo que coincide con nuestros datos; en este trabajo además encontramos *P. simplicissimum* y *P. crustosum* (Figura 2).

Los 50 aislamientos de *Penicillium* aislados corresponden a 12 especies distribuidas en 4 subgéneros. La frecuencia de cada una de las especies, así como su distribución en los subgéneros, se muestra en la figura 2. Todas las especies encontradas están reportadas como productoras de micotoxinas en diferentes sustratos, y aquellas cuya incidencia es mayor están consideradas como especies productoras de gran número de micotoxinas, muchas de las cuales han sido encontradas en condiciones naturales (Davis y Diener, 1978). Teniendo en cuenta lo anterior, la presencia de estas 12 especies en el maíz analizado en el presente trabajo pone de manifiesto el riesgo potencial, con relación a las micotoxinas, que para la salud humana de los habitantes de la Ciudad de México puede representar el consumo de maíz contaminado con *Penicillium*.

Del subgénero *Aspergilloides* fueron identificados 2 aislamientos de *P. glabrum*. Esta es una de las especies más comunes y su distribución es mundial; se ha aislado de muchos sustratos incluyendo alimentos y cereales, y ha sido reportada como productora de penitremo A (Pitt, 1979).

Del subgénero *Furcatum* fueron encontrados *P. oxalicum* y *P. simplicissimum*. De *P. oxalicum* fue identificado un aislamiento. La especie ha sido reportada como productora de oxalina, roquefortina C y citrinina. En maíz se ha encontrado citrinina, que en estudios toxicológicos induce alteraciones renales, aunque no

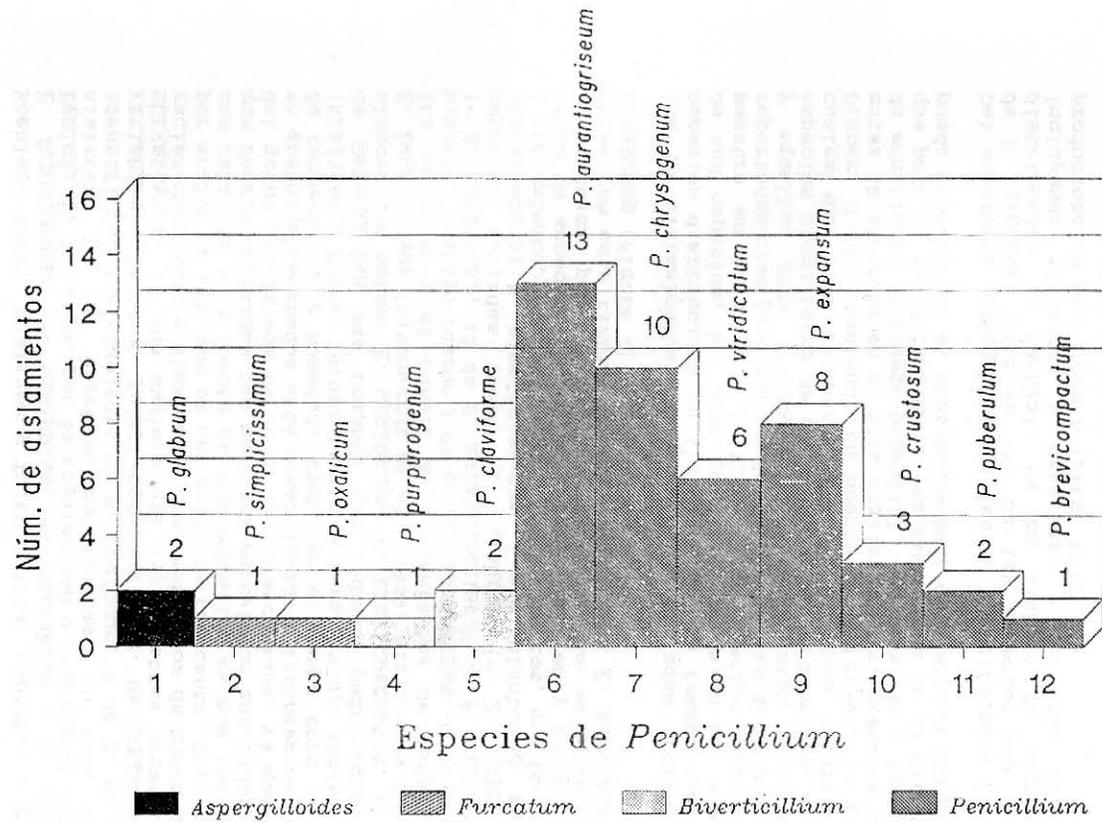


Figura 2. Especies de *Penicillium* aisladas de maíz.

está demostrado plenamente (Saito *et al.*, 1970). De *P. simplicissimum* fue encontrado un aislamiento. Esta especie está reportada como productora de fumitremorginas A y B, ácido penicílico, verruculógeno, toxina de viridicatum y citreoviridina; en maíz ha sido reportado el ácido penicílico (Kurtzman y Ciegler, 1970).

Del subgénero *Biverticillium* fueron encontrados dos aislamientos de *P. claviforme* y uno de *P. purpurogenum*. El primero se aísla difícilmente y se le considera una especie rara; su hábitat primario es el suelo y está consignada como productora de patulina, roquefortina C y citrinina, siendo la citrinina la única toxina reportada en maíz (Chalam y Stahr, 1979). *P. purpurogenum* está registrada como productora de rubratoxinas A y B, ambas halladas en maíz (Davis y Diener, 1978). Las rubratoxinas A y B, a pesar de ser consideradas como miembros menores del grupo de las micotoxinas por no ser muy tóxicas, pueden potenciar la actividad de otros compuestos más dañinos, como las aflatoxinas; en condiciones de laboratorio se han aislado directamente de medios de cultivo líquidos (Moss, 1971).

Del subgénero *Penicillium* fueron aislados *P. aurantiogriseum*, *P. chrysogenum*, *P. viridicatum*, *P. crustosum*, *P. expansum*, *P. puberulum* y *P. brevicompactum*. De *P. aurantiogriseum* fueron obtenidos 13 aislamientos; es una de las especies más comunes en la Tierra, se presenta en cosechas maduras o secas, especialmente cereales y otros alimentos (Pitt, 1979). Esta especie produce ácido penicílico, citrinina, griseofulvina, patulina, roquefortina, rugulosina, ácido ciclopiazónico, citrinina y ocratoxina A. De *P. brevicompactum* fue obtenido un aislamiento se trata de una especie ubicua, frecuentemente aislada de alimentos, cereales, textiles y otras fuentes. Esta especie es productora de ácido micofenólico y ácido penicílico; en maíz únicamente se ha aislado ácido penicílico (Ciegler *et al.*, 1971). De *P. chrysogenum* fueron obtenidos 10 aislamientos; se trata de la especie más ubicua de todos los *Penicillia* y tiene límites muy amplios de hábitat. Esta especie ha sido reportada como productora de toxina PR, roquefortina C, citrinina, ácido micofenólico, ocratoxina A, ácido penicílico y patulina; en maíz se han reportado citrinina, ocratoxina A y ácido penicílico. De *P. crustosum* fueron obtenidos tres aislamientos; ésta es una especie ubicua y se encuentra de manera abundante en la mayoría de los cereales y muestras de alimentos para animales (Pitt, 1979). Está reportada como productora de penitrem A, roquefortina C, ácido ciclopiazónico, griseofulvina, patulina, viomielina y xantomegnina; en maíz ninguna de estas toxinas ha sido reportada (Vleggaar y Steyn, 1980). De *P. expansum* fueron obtenidos 8 aislamientos; es un patógeno de amplio espectro que ha sido aislado con frecuencia de pudriciones de peras y manzanas y de una amplia variedad de tejidos de plantas. Está reportada como productora de citrinina, patulina, roquefortina C y ácido penicílico; en maíz se han encontrado citrinina y ácido penicílico. De *P. puberulum* fueron obtenidos 2 aislamientos, a pesar de tener una distribución geográfica extensa, esta especie se aísla raramente; produce ácido penicílico, griseofulvina y ácido

puberúlico; de maíz únicamente se ha aislado ácido penicílico. De P. viridicatum fueron encontrados 6 aislamientos; es una especie ubicua, comúnmente asociada con granos de cereales y sus derivados. Está reportada como productora de citrinina, ocratoxina A, ácido penicílico; patulina, ácido ciclopiazónico, griseofulvina, rugulosina, ácido micofenólico, penitremo A y toxina de viridicatum; en maíz se han encontrado citrinina, ocratoxina A y ácido penicílico.

CONCLUSIONES

Es necesario hacer inspecciones más intensas y estudios más profundos que permitan conocer la incidencia de los mohos, principalmente los micotoxígenos, que invaden los alimentos, particularmente el maíz, ya que, a pesar de que P. claviforme y P. puberulum son consideradas especies raras, en este trabajo fueron encontrados dos aislamientos de cada uno de ellos.

Con relación a los riesgos micotoxígenos, P. simplicissimum, P. brevicompactum, P. chrysogenum, P. expansum, y P. viridicatum, encontrados en este trabajo pueden producir ácido penicílico, y en maíz esta toxina ha sido encontrada en forma natural, la mayor importancia del ácido penicílico es que su estructura está relacionada con cancerígenos importantes.

P. chrysogenum y P. viridicatum, también encontrados en este trabajo están reportados como productores de ocratoxina A, también aislada de maíz en forma natural según la literatura, y esta toxina está considerada como un cancerígeno importante cuyo órgano blanco es el riñón. P. oxalicum, P. claviforme, P. chrysogenum, P. expansum y P. viridicatum producen citrinina, toxina que en estudios toxicológicos inducen lesiones renales.

Como se sabe que no todos los aislamientos de la misma especie de mohos producen micotoxinas, y que aquellos que las producen pueden perder esta capacidad después de varias resiembras, son necesarias las inspecciones regulares para detectar micotoxinas en los diversos alimentos susceptibles, así como estudios taxonómicos precisos e interdisciplinarios cuidadosos.

LITERATURA CITADA

- Chalam, R.V. y H.M. Stahr, 1979. Thin layer chromatographic determination of citrinin. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 62: 570- 572.
- Ciegler, A., R.W. Detroy y E.B. Lillehoj, 1971. Patulin, penicillic acid and other carcinogenic lactones. In: Ciegler, A., S. Kadis y S.J. Ajl (eds.), Microbial Toxins, Vol. VI, Fungal Toxins. Academic Press, Nueva York.
- Davis, N.D. y U.L. Diener, 1978. Mycotoxins. In: Beuchat, L.R. (ed.), Food and Beverage Mycology. Avi Publ. Co., Westport.
- Frisvad, J.C., 1984. Expressions of secondary metabolism as fundamental characters in Penicillium taxonomy. In: Kurata, H. y Y. Ueno (eds.), Toxigenic Fungi. Elsevier, Amsterdam.
- García Aguirre, G. y R. Martínez Flores, 1985. Aspergillus flavus y aflatoxinas en el maíz del Distrito Federal. Rev. Mex. Mic. 1: 189- 199.
- García Aguirre, G. y R. Martínez Flores, 1989. Micoflora y micotoxinas en pastas (fideo). Anales Inst. Biol. UNAM, Ser. Bot. 58: 1- 6.
- Hitokoto H., S. Morozumi, T. Wauke y H. Kurata, 1984. Distribution of mycotoxin-producing fungi in marketing foods in Japan. In: Kurata, H. y Y. Ueno. (eds.), Toxigenic Fungi- Their Toxins and Health Hazard. Developments in Food Science 7, Elsevier, Amsterdam.
- Justice, O.L. y L.N. Bess, 1979. Principles and Practices of Seed Storage. Castle House Publications, Londres.
- Koehler, B., 1959. Corn ear rots in Illinois. University of Illinois. Agricultural Experimental Station Bull. 639, pp: 21- 22.
- Kurtzman, C. P. y A. Ciegler, 1970. Mycotoxins from a blue- eye moldy corn. Appl. Microbiol. 20: 204- 207.
- Lichtwardt, R.W., G.L. Barron y I.H. Tiffany, 1959. Mold flora associated with shelled corn in Iowa. Iowa State Coll. Sci. 33: 1- 11.
- Martínez Flores, R. y G. García Aguirre, 1989. Micoflora y aflatoxinas en mazapán: inspección preliminar. Anales Inst. Biol. UNAM, Ser. Bot. 58: 7-14.
- Mislivec, P.B. y J. Tuite, 1970a. Species of Penicillium occurring in freshly- harvested and in stored dent corn kernels. Mycologia 62: 67-74.
- Mislivec, P.B. y J. Tuite, 1970b. Temperature and humidity

requirements of species of Penicillium isolated from yellow dent corn kernels. Mycologia 62: 75- 88.

Moss, M.O., 1971. The rubratoxins, toxic metabolites of Penicillium rubrum Stroll. In: Ciegler, A., S. Kadis y S.J. Ajl (eds.), Microbial Toxins, Vol. VI, Fungal Toxins. Academic Press, Nueva York.

Pitt, J.I., 1979. The Genus Penicillium and its Teleomorphic States Eupenicillium and Tallaromyces. Academic Press, Londres.

Saito, M., M. Enomoto, T. Tatsuo y K. Uruguchi, 1971. Yellowed rice toxins. Luteoskirin and related compounds, chlorine- containing compounds and citrinin. In: Ciegler, A., S. Kadis y S.J. Ajl (eds.), Microbial Toxins, Vol. VI, Fungal Toxins. Academic Press, Nueva York.

Schuller, P.L., H.P. van Egmond y L. Stoloff, 1983. Limits and regulations of mycotoxins. Proc. Int. Symp. Mycotoxins, pp. 111-129.

Shurtleff, M. (ed.), 1980. Compendium of Corn Diseases, 2a. ed. Amer. Phytopathological Society, p. 54.

Steyn, P.S., 1979. Ochratoxin and other dihydroisocoumarins. In: Ciegler, A., S. Kadis y S.J. Ajl (eds.), Microbial Toxins, Vol. VI, Fungal Toxins. Academic Press, Nueva York.

Stoloff, L., 1979. The three eras of fungal toxin research. J. Amer. Chem. Soc. 56: 784- 788.

Tuite, J., 1961. Fungi isolated from unstored corn seed in Indiana in 1956- 1958. Plant Dis. Rep. 45: 212- 215.

Vleggaar, R. y P. S. Steyn, 1980. The biosynthesis of some miscellaneous mycotoxins. In: Steyn, P.S. (ed.), The Biosynthesis of Mycotoxins: A study in Secondary Metabolism. Academic Press, Londres.

Wilson, B.J., 1971. Miscellaneous Penicillium toxins. In: Ciegler, A., S. Kadis y S.J. Ajl (eds.), Microbial Toxins, Vol. VI, Fungal Toxins. Academic Press, Nueva York.