# UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

## FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

# ALTERACION DEL CRECIMIENTO, LA ESPORULACION Y LA PRODUCCION DE TOXINAS DE *Aspergillus flavus* Link ex Fries Y *Aspergillus parasiticus* Speare POR EXTRACTOS DE PLANTAS DEL GENERO *Yucca* Y *Larrea tridentata* DC Cov.

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGIA

PRESENTA

*CESAR ALFREDO SANCHEZ GARCIA*

SAN NICOLAS, N. L. ENERO 2000

SANCHEZ GARCIA CESAR ALFREDO

TD
Z5320
FCB
2000
S2

1020145323

# UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
## FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS
### DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

ALTERACION DEL CRECIMIENTO, LA ESPORULACIÓN
Y LA PRODUCCIÓN DE TOXINAS DE *Aspergillus flavus* Link ex Fries
Y *Aspergillus parasiticus* Speare POR EXTRACTOS DE PLANTAS
DEL GENERO *Yucca* Y *Larrea tridentata* DC Cov.

**TESIS**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGIA

**PRESENTA**

**CESAR ALFREDO SANCHEZ GARCIA**

San Nicolas, N.L. Enero 2000.

014-5

TA
539
C8
2000
S2

FONDO
TESIS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

# ALTERACION DEL CRECIMIENTO, LA ESPORULACIÓN Y LA PRODUCCIÓN DE TOXINAS DE *Aspergillus flavus* Link ex Fries Y *Aspergillus parasiticus* Speare POR EXTRACTOS DE PLANTAS DEL GENERO *Yucca* Y *Larrea tridentata* DC Cov.

## TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGIA

**PRESENTA**

**CESAR ALFREDO SANCHEZ GARCIA**

APROBADA
COMISION DE TESIS

Dr. José Santos García Alvarado
Presidente

Dra. Norma Laura Heredia Rojas
Secretario

Dra. María Julia Verde Star
Vocal

Dr. Rafael Castro Franco
Vocal

Dr. Rahim Foroubakhch Pournavab
Vocal

San Nicolas, N.L. Febrero 2000.

ALTERACION DEL CRECIMIENTO, LA ESPORULACIÓN
Y LA PRODUCCIÓN DE TOXINAS DE *Aspergillus flavus* Link ex Fries
Y *Aspergillus parasiticus* Speare POR EXTRACTOS DE PLANTAS
DEL GENERO *Yucca* Y *Larrea tridentata* DC Cov.

ESTE TRABAJO FUE REALIZADO BAJO LA DIRECCION DEL Dr. JOSE SANTOS GARCIA ALVARADO Y CO-DIRECCION DE LA Dra. NORMA LAURA HEREDIA ROJAS; EN EL LABORATORIO DE BIOQUIMICA Y GENETICA DE MICROORGANISMOS DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E INMUMOLOGIA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS DE LA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

LA INVESTIGACION FUE FINANCIADA POR EL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA, BAJO EL PROYECTO 4092P-B9607. EL DOCTORANTE AGRADECE UNA BECA DEL MISMO ORGANISMO PARA EL PROGRAMA DOCTORAL.

La necesidad del hombre por alcanzar una meta
es muy grande pero solo la logrará
cuando este dispuesto a pagar el precio.

A SHADOW ON THE WALL...

## DEDICATORIA

A mis padres César Sánchez Quezada (+) y Rosalinda García Garza
por lo que fui, soy y sere.

A mis hermanos (Eduardo, Alberto e Ilyana) por estar ahi siempre;
soportar mis ratos de furia y desaogo

A Gabrielle Alexandra Desiree Quinn Galavez;
por su amor, cariño y su comprensión.
TE QUIERO CHIQUITA!.

A Cassandra Francesca y Desiree Hope ya que les
futuro pertenece y por ser como son.
GRACIAS PRINCESITAS!.

To Kayla for everything you teach me in so little time K-2000.

Al Dr. José Santos García Alvarado y al Dra. Norma Laura Heredia
Rojas por lo que aprendí con ellos, los momentos buenos, los malos,
pero sobre todo por su amistad atravez del tiempo.

A Son Goku, Vegeta, Picoro Daimaku, Ranma, Genma, Pikachu,
Charmander, Squartle, Butterfly y los demas; por lograr la meta
mas dificil de todas hacerme soñar; enseñarme a olvidar mis
problemas y hacerme ver que siempre es posible si así lo deseas.

# AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo ecónomico brindado para la realización de esta investigación y la beca otorgada.

A la Dra. Ma. Julia Verde Star y al Dr. Rahim Foroubakhch Pournavab por tomarse el tiempo y paciencia para la revisión de este trabajo y por sus inmejorables consejos.

Al Dr. Rafael Franco Castro por su apoyo y asesoría en este trabajo ademas de su amistad incondicional

Al equipo de trabajo del Laboratorio de Bioquímica y Genética de Microorganismos por todo lo que convivimos.

Al personal docente de la Facultad de Ciencias Biológicas que me dio gran parte de los conocimientos y me enseño a amar mi segundo hogar.

# INDICE DE CONTENIDO


| | Página |
|---|---|
| Página de Título | I |
| Dedicatoria | V |
| Agradecimientos | VI |
| Indice de Contenido | VII |
| Lista de Figuras | X |
| Lista de Tablas | XIII |
| Lista de Abreviaturas | XV |
| Abstract | 10 |
| Resumen | 12 |
| Introducción | 14 |
| Antecedentes | 16 |
| Generalidades de *Aspergillus* | 16 |
| Producción de Mictotoxinas | 17 |
| Acido Ciclopiazónico | 18 |
| Ocurrencia | 18 |
| Actividad biológica | 19 |
| Acido Kójico | 21 |
| Ocurrencia | 21 |
| Usos | 22 |
| Actividad biológica | 22 |
| Aflatoxinas | 24 |
| Ocurrencia | 25 |
| Ocurrencia en México | 27 |
| Regulación | 28 |
| Actividad biológica | 28 |
| Métodos de Control | 31 |
| Actividad Antifúngica de Extractos de Plantas | 34 |
| Efecto de Extractos de Plantas sobre la Producción de Toxinas Fúngicas | 41 |
| Inhibición de Efectos de Aflatoxinas por Extractos de Plantas | 43 |

Página

Hipótesis..... 45
Objetivo General..... 45
Objetivos Específicos..... 45
Material y Métodos..... 47
Microorganismos a Utilizar..... 47
Inoculo..... 47
Plantas Usadas..... 47
Obtención de los Extractos..... 48
Extractos de *Yucca*..... 48
Extractos de *Larrea tridentata*..... 48
Determinación de la Actividad Antifúngica..... 49
Determinación de la CMI del Crecimiento en Medio de Cultivo..... 50
Efectos Sobre el Crecimiento en Medio de Cultivo..... 50
Efecto de Mezclas de los Extractos..... 51
Efectos Sobre la Producción de Toxinas en Medio de Cultivo..... 51
Extracción Múltiple de Toxinas..... 52
Cuantificación de Aflatoxinas..... 53
Cuantificación de Acido Ciclopiazónico..... 53
Cuantificación de Acido Kójico..... 54
Concentración Mínima Esporicida..... 55
Efectos Sobre la Germinación de Esporas..... 55
Efectos Sobre el Crecimiento de Tubo Germinativo..... 55
Determinación de la CMI del Crecimiento en Maíz bajo Condiciones de Almacén..... 56
Efecto de Dosis Subinhibitorias en el Crecimiento del Hongo en Maíz en Condiciones de Almacén..... 56
Efecto de Dosis Subinhibitorias en la Producción de Toxinas del Hongo en Maíz en Condiciones de Almacén..... 57
Extracción de Toxinas de Maíz en Condiciones de Almacén..... 57
Separación de Compuestos Antifúngicos..... 57

Página


Determinación de la Banda Activa..... 58

Purificación del Compuesto de *Larrea tridentata*..... 58

Purificación del Compuesto de *Yucca*..... 59

Resultados..... 60

Extractos con Actividad Antifúngica..... 60

Concentración Mínima Inhibitoria..... 63

Efecto de las Mezclas de los Extractos..... 65

Efecto del Crecimiento en Medio de Cultivo..... 66

Efecto sobre la Producción de Aflatoxinas en Medio de Cultivo..... 77

Efecto sobre la Producción de Acido Ciclopiazónico en Medio de Cultivo.. 79

Efecto sobre la Producción de Acido Kójico en Medio de Cultivo..... 81

Concentración Mínima Esporicida..... 82

Efecto en la Germinación de Esporas..... 84

Efecto en la Producción de Tubo Germinativo..... 86

Concentración Mínima Inhibioria en Maíz Bajo Condiciones de Almacén..... 88

Efecto en el Crecimiento en Maíz Bajo Condiciones de Almacén..... 88

Efecto sobre la Producción de Aflatoxinas en Maíz Bajo Condiciones de Almacén..... 91

Efecto sobre la Producción de Acido Ciclopiazónico en Maíz Bajo Condiciones de Almacén..... 93

Efecto sobre la Producción de Acido Kójico en Maíz Bajo Condiciones de Almacén..... 94

Compuesto Activo de *Larrea tridentata*..... 94

Compuesto Activo de *Yucca rigida*..... 98

Discusión..... 102

Conclusiones..... 115

Perspectivas de la Investigación..... 116

Bibliografía..... 117

## LISTA DE FIGURAS


Página

Figura 1.- Halos de Inhibición en Pozos..... 62

Figura 2.- Halos de Inhibición en Discos..... 62

Figura 3.- Concentración Mínima Inhibitoria del extracto de *Larrea tridentata* en Medio Sólido..... 63

Figura 4.- Concentración Mínima Inhibitoria del extracto de *Yucca rigida* en Medio Sólido..... 63

Figura 5.- Concentración Mínima Inhibitoria del extracto de *Larrea tridentata* en Medio Líquido..... 63

Figura 6.- Concentración Mínima Inhibitoria del extracto de *Yucca rigida* en Medio Líquido..... 63

Figura 7.- Control del Crecimiento Colonial de *Aspergillus*..... 67

Figura 8.- Efecto del 25 % de la CMI en el Crecimiento Colonial de *Aspergillus* por *Larrea*..... 67

Figura 9.- Efecto del 50 % de la CMI en el Crecimiento Colonial de *Aspergillus* por *Larrea*..... 68

Figura 10.- Efecto del 75 % de la CMI en el Crecimiento Colonial de *Aspergillus* por *Larrea*..... 68

Figura 11.- Control del Crecimiento de *Aspergillus* a Nivel Microscópico..... 69

Figura 12.- Efecto del 25 % de la CMI en el Crecimiento *Aspergillus* por *Larrea* a Nivel Microscópico..... 69

Figura 13.- Efecto del 50 % de la CMI en el Crecimiento *Aspergillus* por *Larrea* a Nivel Microscópico..... 69

Figura 14.- Efecto del 75 % de la CMI en el Crecimiento *Aspergillus* por *Larrea* a Nivel Microscópico..... 69

Figura 15.- Control del Crecimiento de *Aspergillus* en Microscopia Electrónica..... 70

Página

Figura 16.- Efecto del 25 % de la CMI en el Crecimiento *Aspergillus* por *Larrea* en Microscopia Electrónica..... 70

Figura 17.- Efecto del 50 % de la CMI en el Crecimiento *Aspergillus* por *Larrea* en Microscopia Electrónica..... 71

Figura 18.- Efecto del 75 % de la CMI en el Crecimiento *Aspergillus* por *Larrea* en Microscopia Electrónica..... 71

Figura 19.- Control del Crecimiento Colonial de *Aspergillus*..... 72

Figura 20.- Efecto del 25 % de la CMI en el Crecimiento Colonial de *Aspergillus* por *Yucca*..... 72

Figura 21.- Efecto del 50 % de la CMI en el Crecimiento Colonial de *Aspergillus* por *Yucca*..... 73

Figura 22.- Efecto del 75 % de la CMI en el Crecimiento Colonial de *Aspergillus* por *Yucca*..... 73

Figura 23.- Control del Crecimiento de *Aspergillus* a Nivel Microscópico..... 74

Figura 24.- Efecto del 25 % de la CMI en el Crecimiento *Aspergillus* por *Yucca* a Nivel Microscópico..... 74

Figura 25.- Efecto del 50 % de la CMI en el Crecimiento *Aspergillus* por *Yucca* a Nivel Microscópico..... 74

Figura 26.- Efecto del 75 % de la CMI en el Crecimiento *Aspergillus* por *Yucca* a Nivel Microscópico..... 74

Figura 27.- Control del Crecimiento de *Aspergillus* en Microscopia Electrónica..... 75

Figura 28.- Efecto del 25 % de la CMI en el Crecimiento *Aspergillus* por *Yucca* en Microscopia Electrónica..... 75

Figura 29.- Efecto del 50 % de la CMI en el Crecimiento *Aspergillus* por *Yucca* en Microscopia Electrónica..... 75

Figura 30.- Efecto del 75 % de la CMI en el Crecimiento *Aspergillus* por *Yucca* en Microscopia Electrónica..... 75

Figura 31 .- Control del Crecimiento de *Aspergillus* en Maíz bajo Condiciones de Almacén..... 89

Página

Figura 32 .- Efecto del 25 % de la CMI sobre el Crecimiento *Aspergillus* en Maíz bajo Condiciones de Almacén..... 89
Figura 33 .- Efecto del 50 % de la CMI sobre el Crecimiento *Aspergillus* en Maíz bajo Condiciones de Almacén..... 90
Figura 34 .- Efecto del 75 % de la CMI sobre el Crecimiento *Aspergillus* en Maíz bajo Condiciones de Almacén..... 90
Figura 35 .- Efecto del 100 % de la CMI sobre el Crecimiento *Aspergillus* en Maíz bajo Condiciones de Almacén..... 90
Figura 36 .- Cromatografia en Capa Fina del Extracto de *Larrea tridentata*..... 95
Figura 37 .- Autobiografía del Extracto de *Larrea tridentata*..... 96
Figura 38 .- Técnica de Difusión de las Bandas del Extracto de *Larrea tridentata*..... 97
Figura 39 .- Cromatografia en Capa Fina del Extracto de *Yucca rigida*..... 99
Figura 40 .- Autobiografía del Extracto de *Yucca rigida*..... 99
Figura 41 .- Técnica de Difusión de las Bandas del Extracto de *Yucca rigida*.... 100

## LISTA DE TABLAS

Página

Tabla 1.- Resultados de los Extractos de Plantas Probadas sobre Cepas de *Aspergillus*..... 60

Tabla 2.- Resultados de los Extractos de Plantas Probadas sobre Cepas de *Aspergillus*..... 61

Tabla 3.- Concentraciones Mínimas Inhibitorias de los Extractos en Medio Sólido..... 64

Tabla 4.- Concentraciones Mínimas Inhibitorias de los Extractos en Medio Líquido..... 65

Tabla 5.- Concentraciones Mínimas Inhibitorias de las Mezclas de los Extractos..... 66

Tabla 6.- Efecto del Extracto de *Larrea* sobre Diámetro de Colonia..... 67

Tabla 7.- Efecto del Extracto de *Yucca* sobre Diámetro de Colonia..... 72

Tabla 8.- Efecto de Concentraciones Subletales de *Larrea tridentata* sobre el Crecimiento..... 76

Tabla 9.- Efecto de Concentraciones Subletales de *Yucca rigida* sobre el Crecimiento..... 77

Tabla 10.- Efecto del Extracto de *Larrea* sobre la Producción de Aflatoxinas..... 78

Tabla 11.- Efecto del Extracto de *Yucca* sobre la Producción de Aflatoxinas..... 79

Tabla 12 .- Evaluación de la Producción de Acido Ciclopiazónico..... 80

Tabla 13 .- Evaluación de la Producción de Acido Kójico..... 81

Tabla 14 .- Concentración Mínima Esporicida del Extracto de *Larrea*..... 82

Tabla 15 .- Concentración Mínima Esporicida del Extracto de *Yucca*..... 83

Tabla 16.- Efectos del Extracto de *Larrea tridentata* sobre los Porcentajes de Germinación en cepas de *Aspergillus*..... 84

Tabla 17.- Efectos del Extracto de *Yucca rigida* sobre los Porcentajes de Germinación en cepas de *Aspergillus*..... 85

Tabla 18.- Efectos del Extracto de *Larrea tridentata* sobre el Crecimiento del Tubo Germinativo en cepas de *Aspergillus*..... 86

Página

Tabla 19.- Efectos del Extracto de *Yucca rigida* sobre el Crecimiento del Tubo Germinativo en cepas de *Aspergillus*..... 87

Tabla 20 .- Concentraciones Mínimas Inhibitorias de Extractos de *Larrea tridentata* y *Yucca rigida* en Maíz..... 88

Tabla 21.- Efecto del Extracto de *Larrea* sobre la Producción de Aflatoxinas en Maíz bajo Condiciones de Almacén..... 92

Tabla 22.- Efecto del Extracto de *Yucca* sobre la Producción de Aflatoxinas en Maíz bajo Condiciones de Almacén..... 93

Tabla 23.- Determinación de la Fase Móvil mas Adecuada para la Separación del Compuesto Activo de *Larrea tridentata*..... 95

Tabla 24.- Pruebas Químicas Realizadas para Determinar la Naturaleza del Compuesto Activo de *Larrea tridentata*..... 97

Tabla 25.- Determinación de la Fase Móvil mas Adecuada para la Separación del Compuesto Activo de *Yucca rigida*..... 98

Tabla 26.- Pruebas Químicas Realizadas para Determinar la Naturaleza del Compuesto Activo de *Yucca rigida*..... 101

## LISTA DE ABREVIATURAS

### A

| | |
|---|---|
| $A_{505}$ | Absorbancia a 505 nm |
| $A_{580}$ | Absorbancia a 580 nm |
| ADN | Acido Desoxirribonucleico |
| AF | Aflatoxina (s) |
| $AFB_1$ | Aflatoxina $B_1$ |
| $AFB_2$ | Aflatoxina $B_2$ |
| $AFG_1$ | Aflatoxina $G_1$ |
| $AFG_2$ | Aflatoxina $G_2$ |
| AK | Acido Kójico |
| ANOVA | Análisis de Varianza |
| AOAC | Asociación Oficial de Química Analítica (Association of Offical Analytical Chemist) |
| ARN | Acido Ribonucleico |
| ATP | Adenosin Trifosfato |
| ATPasa | Enzima Adenosin Trifosfatasa |

### C

| | |
|---|---|
| °C | Grados Centígrados |
| $Ca^{2+}$ | Ion Calcio |
| C.A.S.T. | Consejo para la Agricultura Ciencia y Tecnología (Council for Agricultural Science and Technology) |
| $cm^2$ | Centímetro Cuadrado |
| CME | Concentración Mínima Esporicida |
| CMI | Concentración Mínima Inhibitoria |
| CPA | Acido Cilopiazónico |

### D

| | |
|---|---|
| d | Día (s) |

## E

| | |
|---|---|
| E.U.A. | Estados Unidos de América |
| *et al* | Y Colaboradores |
| etc. | Etcétera |

## F

| | |
|---|---|
| FAO | Organización de Agricultura y Alimentos (Food and Agriculture Organization) |
| FDA | Administración de Drogas y Alimentos (Food and Drug Administration) |
| $FeCl_3$ | Cloruro de Fierro III |
| Fig. | Figura |
| Figs. | Figuras |

## G

| | |
|---|---|
| x g | Fuerza Gravitacional |
| g | Gramo (s) |

## H

| | |
|---|---|
| h | Hora (s) |
| HCl | Acido Clorhídrico |
| HPLC | Cromatografía Líquida de Alta Resolución (High Performance Liquid Cromatography) |

## K

| | |
|---|---|
| kg | Kilogramo (s) |

## L

| | |
|---|---|
| l | Litro (s) |
| $LD_{50}$ | Dosis Letal para el 50 % de la Población |

## M

| | |
|---|---|
| M | Molar |
| mg | Miligramo (s) |
| ml | Mililitro (s) |
| mm | Milímetro (s) |
| mM | Milimolar |
| min | Minuto (s) |
| µ | Micrómetro (s) |
| µg | Microgramo (s) |
| µl | Microlitro (s) |

## N

| | |
|---|---|
| N | Normalidad |
| $NaHCO_3$ | Carbonato Acido de Sodio |
| NaOH | Hidróxido de Sodio |
| nm | Nanómetro (s) |
| No. | Número (s) |

## O

| | |
|---|---|
| OMS | Organización Mundial de la Salud |

## P

| | |
|---|---|
| PDA | Papa Dextrosa Agar |
| pH | Logaritmo Reciproco de la Concentración de Ion Hidrógeno |
| p.p.b. | Partes por Billón |
| p.p.m. | Partes por Millón |
| p/v | Porciento Peso / Volumen |

## S

| | |
|---|---|
| *sp.* | Sin Especie |
| SRRC | Centro de Investigación Regional del Sur (Southern Regional Research Center) |

## U

| | |
|---|---|
| UNEP | Programa Ambiental de las Naciones Unidas (United Nations Environmental Program) |
| USDA | Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (United States Department of Agriculture) |

## V

| | |
|---|---|
| v/v | Porciento Volumen / Volumen |
| % | Porciento |

## ABSTRACT

In Mexico and another countries, *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* are a big problem of polution in crops such as corn and the products derived from these. La main importance of these microorganisms is their capability of produce diverse toxins at the same time; between the most common are aflatoxins (AF), ciclopiazonic acid (CPA) and kojic acid (AK); in case of be consumed can cause dangerous damages to the living organisims; like hepatotoxicity, teratogenicity, immunotoxicity and dead. Different physical and chemical methods have been used to control the contamination of food and feeds by these fungi or their toxins, however, until now there is not a method that provide all the appropriate characteristics for it use on foods. The world tendencies show an increase for the comsumtion of food without the use of chemical substances, in this work we study the effectivity of two plant extracts as an alternative for the control of the contamination by these fungi and their toxins. We obtained different extracts from plants of genera *Yucca* and *Larrea*; the preliminary results shown that the extracts of *Yucca rigida* and *Larrea tridentata* got the best inhibition on growth; follow it these; we determinate the minimal inhibitory concentration and the effect on production of aflatoxins, ciclopiazonic acid and kojic acid, in both, culture media and corn kernels under storage conditions. Finally were aditionated subinhibitory concentrations so we could determinate the effect on hifae growth, viability and germination of spores, growth of germinative tube and toxins production.

The *Larrea tridentata* extract was the most effective on growth inhibition. The addition of subinhibitory doses of the *L. tridentata* extract (25 to 75 % of MIC) originated reductions of growth form 35 to 70 % on all strains used, for *Y. rigida* extract we determinate reductions of around 65 % on all strains. Both extracts inhibited strongly the production of all the toxins analyzed even on the lowest concentration (25 % of MIC). These activity was observed same on cultured media and corn kernels under storage conditions. By the way, was observed an strong sporicide activity and the inhibition of growth of germinative tube. The statistical analysis didn't show significative differences ($P > 0.05$) between the strains, but it did between the species ($P < 0.05$) and the extracts used ($P < 0.05$). The active compounds were isolated and the chemical analysis show the presence of a lignane for *L. tridentata* extracts and a steroidal saponin for *Y. rigida* extracts. Both compounds could be an alternative for the preservation of foods and feeds susceptible of contamination for these microorganisms.

## RESUMEN

En México así como en otros países, los hongos *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* representan una grave problema de contaminación en cultivos de maíz y de sus productos procesados. La importancia de estos organismos radica en su capacidad para producir varias toxinas; entre estas se encuentran: las aflatoxinas (AF), el ácido ciclopiazónico (CPA) y el ácido kójico (AK) cuya ingesta puede llegar a causar daños tan severos como hepatotoxicidad, teratogenicidad, inmunotoxicidad e incluso la muerte. Se han probado y usado diferentes métodos físicos y químicos para controlar la contaminación de alimentos por el hongo o sus toxinas, sin embargo, hasta el momento no existe ningún método satisfactorio. Tomando en cuenta la tendencia mundial de consumo de alimentos totalmente naturales, en este trabajo investigamos la efectividad de dos extractos de plantas como alternativa para el control de la contaminación por estos hongos y sus toxinas en alimentos. De acuerdo con ensayos preliminares, se obtuvieron diferentes extractos de plantas de los géneros *Yucca* y *Larrea*. Los extractos de *Yucca rigida* y *Larrea tridentata* presentaron mayor inhibición de crecimiento y se les determinó la concentración mínima inhibitoria del crecimiento y la producción de aflatoxinas, ácido ciclopiazónico y ácido kójico, tanto en medio de cultivo como en maíz en condiciones de almacén. Posteriormente se adicionaron dosis subinhibitorias de los extractos para determinar su efecto en el crecimiento, la

viabilidad, la germinación de esporas, el crecimiento de tubo germinativo y la producción de toxinas.

El extracto de *Larrea tridentata* fue mas efectivo en la inhibición del crecimiento. La adición de dosis subinhibitorias (25 a 75 % de la CMI) del extracto de *L. tridentata* originó reducciones del crecimiento que variaban desde un 35 a un 70 % en todas las cepas usadas, en el caso del extracto de *Y. rigida* se observaron reducciones en el crecimiento hasta un 65 % dependiendo de la cepa y la concentración del extracto usado. Ambos extractos inhibieron fuertemente la producción de las tres toxinas analizadas aún en la concentración mas baja usada (25 %). Esta actividad se mostró tanto en medio de cultivo como en maíz en condiciones de almacén. Igualmente de importancia resultó la actividad esporicida de los extractos, así como la inhibición del crecimiento del tubo germinativo. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas ($P > 0.05$) entre las cepas de la misma especie, pero si entre las especies diferentes ($P < 0.05$) y de igual forma entre los extractos usados ($P < 0.05$). Los compuestos activos se aislaron y de acuerdo con análisis químicos que indican la presencia de un lignano en el caso del extracto de *L. tridentata* y de una saponina de tipo esteroideo en el caso de *Y. rigida*. Estos compuestos pueden ser una alternativa para la preservación de alimentos susceptibles de contaminación por estos microorganismos.

# INTRODUCCION

Hoy en día la contaminación de los cereales por hongos es uno de los problemas en alimentación mas grandes a nivel mundial. Se estima que una cuarta parte de todas las cosechas de cereales se contaminaban en el campo o durante su almacenaje (C.A.S.T., 1989; Trail, *et al.*, 1995). Algunos de los principales hongos contaminantes de estos tipo de cultivos pertenecen al género *Aspergillus*. Las principales especies asociadas a esta contaminación son: *A. flavus* Link y *A. parasiticus* Speare, los cuales, además de producir daños físicos en el grano son capaces de generar sustancias tóxicas para los consumidores. Entre las toxinas o micotoxinas mas importantes que producen estos hongos se encuentran el ácido ciclopiazónico (CPA) , el ácido kójico (AK) y las aflatoxinas (AF) como indican Dowd (1988); Gqaleni, *et al.* (1997); Pier, *et al.* (1989); Trail, *et al.* (1995).

El ácido ciclopiazónico al ser ingerido por ratas, perros y otros mamíferos en dosis subletales causa pérdida de peso y aumento en la concentración de amilasa, colesterol y lipasa sérica (Gqaleni, *et al.*, 1997; Pier, *et al.*, 1989; Raymond, *et al.*, 1995). El ácido kójico presenta una alta citotoxicidad hacia leucocitos, además de una actividad cardiotóxica; también se ha visto que si esta toxina se inocula por vía intraperitoneal puede causar convulsiones o la muerte (Beelik., 1956; Werch, *et al.*, 1957; Wilson., 1966). Las aflatoxinas provocan hepatotoxicidad, teratogenicidad, inmunotoxicidad e incluso la muerte; además,

se les ha relacionado fuertemente con la aparición de cáncer hepático (Dvorackva., 1990; Ellis, *et al.*, 1991; Wilson., 1966).

Debido a su alta toxicidad se han realizado diversas investigaciones sobre métodos físicos, químicos y biológicos para controlar o eliminar al hongo o la producción de las micotoxinas. Sin embargo, estos procesos son caros, inefectivos o de muy difícil manejo (Applebaun y Marth., 1980; Ellis, *et al.*, 1991; Karunaratne, *et al.*, 1990; Moss y Smith., 1985). Actualmente algunas sustancias provenientes de plantas con actividad antifúngica o bien inhibidora de la producción de micotoxinas han comenzado a verse como una alternativa para controlar estos microorganismos en cereales (Ellis, *et al.*, 1991; Trail, *et al.*, 1995).

En este trabajo se probó la efectividad de extractos de plantas de la región como inhibidores del crecimiento, de la formación de esporas y de la producción de toxinas, tanto en medio de cultivo como en granos de maíz en condiciones de almacenaje.