

PRESENCIA DE AFLATOXINAS EN SEMILLAS DE GIRASOL

E. Varsavsky, S. Chulze, I. Rizzo y A. M. Dalcero
Instituto Nacional de Farmacología y Bromatología, Caseros 2161,
Buenos Aires (1264). Dep. de Microbiología y Bromatología, Univer-
sidad de Río Cuarto, Pcia. de Córdoba.

Resumen

Para continuar con el estudio sobre la incidencia de aflatoxinas en semillas de girasol, se realizó un análisis de 200 muestras con el propósito de comparar el grado de contaminación de 2 áreas geográficas de gran producción: Pcia. de Buenos Aires y Pcia. de Córdoba. Las muestras se analizaron por el método BF del Libro de Métodos Oficiales del AOAC, 1980. Las 100 muestras de la Pcia. de Buenos Aires fueron negativas para aflatoxinas, en cambio las 100 muestras de la Pcia. de Córdoba fueron positivas en un 8% con concentraciones de aflatoxinas que oscilaban entre 12 a 20 ug/Kg.

Para el aislamiento de los hongos contaminantes de las semillas se usó la cámara húmeda y agar extracto de malta donde se sembraron semillas desinfectadas y no desinfectadas. La flora fúngica aislada en la Pcia. de Buenos Aires se caracterizó por la presencia dominante de el género Alternaria y por la ausencia de Aspergillus. Cepas de Alternaria resultaron productoras de Alternariol y Monometil Eter. Las semillas provenientes de la Pcia. de Córdoba presentaron un mayor grado de contaminación. Se aisló Alternaria en un 96% de las muestras y Aspergillus flavus en el 50% de las mismas, siendo el 30% de las cepas aflatoxicogénicas.

Se puede inferir que la incidencia de contaminación por aflatoxinas y por A. flavus está influenciada por factores geográficos como se ha demostrado en maíz.

Introducción

Las micotoxinas son metabolitos tóxicos producidos por varias especies de hongos que contaminan, muy frecuentemente, productos agrícolas. Hasta el presente, las micotoxinas más estudiadas desde un punto de vista médico y científico son las aflatoxinas, un grupo de compuestos relacionados químicamente entre sí y producidos por dos hongos muy comunes en el ambiente, el Aspergillus flavus y el A. parasiticus. Las aflatoxinas son contaminantes naturales del maíz y maíz, en primer término, y de otros cereales y oleaginosas, tanto en la planta como durante el almacenamiento. Así mismo se han encontrado en nueces, legumbres, frutas y como residuos en leche, carne y huevos de animales que consumen alimentos contaminados. Son consideradas un peligro para la salud humana y animal por sus efectos tóxicos agudos con severos daños hepáticos y sobre todo, por su toxicidad crónica con la formación de hepatocarcinomas. (Stoloff, 1977)

Los estudios desarrollados en nuestro país sobre la incidencia de aflatoxinas en oleaginosas comenzaron en 1972 con los análisis de de maní de varias cosechas sucesivas y el estudio de los hongos contaminados (E. Varsavsky, 1973; E. Varsavsky et al., 1977. Informes INTA, 1977-1980). Recien en el año 1979 se comenzaron a estudiar la incidencia de las aflatoxinas en semillas de girasol. Hasta ese momento habían escasos informes de otros países y ningunos de ellos demostraban contaminación por aflatoxinas. Los primeros ensayos realizados en nuestro país con 50 muestras de semillas de girasol de la Cámara Arbitral de Cereales de Rosario (M.T. Mujica et al. 1979) dieron 2 muestras positivas con un contenido de aflatoxina B₁ superior a 5 uf/kg. Los trabajos realizados con 50 muestras de semillas de girasol de la Pcia. de Córdoba (A.M. Dalcero et al., 1980) demostraron un 28% de contaminación con un nivel de aflatoxinas por debajo de 30 ug/Kg, con excepción de 3 muestras conteniendo 71, 286 y 357 ug/Kg cada una.

Como consecuencia de estos resultados el presente trabajo tuvo como objetivo comparar el grado de contaminación con aflatoxinas en 200 muestras de semillas provenientes de las áreas geográficas de mayor producción. Provincia de Buenos Aires y Provincia de Córdoba, correspondientes a la cosecha 1981-1982.

Materiales y Métodos

Se analizaron 100 muestras provenientes de la Pcia. de Buenos Aires y 100 de la Pcia. de Córdoba. Estas 2 zonas representan un área productora de 10.000 Km². Ambas áreas fueron sembradas en Septiembre a Diciembre de 1981 y cosechadas en Marzo a Mayo de 1982. Las muestras presentaban las siguientes características:

	Buenos Aires	Córdoba
Almacenamiento	no	50% almacenado hasta 4 meses
Contenido de humedad	7-9%	7-9%
Ataque de insectos	no	no
Cuerpos extraños	no	si

Para la extracción y detección de las aflatoxinas se utilizó el método BF de los Métodos de Análisis Oficiales (AOAC, 1980) levemente modificado. Los extractos fueron identificados por cromatografía en capa fina usando Tolueno-Acetato de etilo-90% Ac. Fórmico (6:3:1) como solvente de desarrollo. La cuantificación se hizo por comparación visual con un patrón en solución clorofórmica de aflatoxinas B₁ 1 ug/ml, B₂ 0,5 ug/ml, G₁ 1 ug/ml y G₂ 0,5 ug/ml. La confirmación se obtuvo por un spray de Acido sulfúrico al 30%. El examen de la flora fúngica se realizó con semillas desinfectadas

y no desinfectas sembradas en cámara húmeda y en agar extracto de Malta (A.M. Dalcerro, 1980), e identificadas despues de 7 días de n cubación a temperatura ambiente. Las cepas del grupo A. flavus y A. ochraceus así como de Alternaria se sembraron en arroz para su ex tracción (Shotwell, O. et al., 1966) y las cepas de Penicillium y F. sarrrium se sembraron en medio YES para la producción (Scott, P., 1978) y extracción de las toxinas.

Resultados

Las 100 muestras provenientes de la Pcia. de Buenos Aires fueron ne gativas para aflatoxinas, en cambio, las 100 muestras de la Pcia. de Córdoba presentaron un 8% de contaminación con una concentración que oscilaba entre 12-20 ug/Kg de aflatoxinas.

La flora fúngica aislada de las semillas de girasol de ambas regio- nes se observa en el cuadro 1.-

Cuadro 1.- Flora fúngica de semillas de girasol

Sustrato	Especies	Pcia. Bs. Aires (%)		Pcia. Córdoba (%)	
		N.D.	D	N.D.	D
Cámara húmeda	Alternaria	100	100	96	96
	Rhizopus	2	-	12	-
	Cladosporium	1	-	-	-
	A. flavus	-	-	14	8,0
	A. niger	-	-	3	2,3
	A. ochraceus	-	-	2	-
	A. candidus	-	-	1	2
	Penicillium sp	-	-	2	2,3
P. citrinum	-	-	1	-	
Agar Malta	Alternaria	100	100	96	87,3
	Rhizopus	33	-	-	-
	Cladosporium	6	-	3	-
	A. flavus	-	-	68	49,7
	A. glaucus	-	-	58	49
	A. Ochreasus	-	-	54	25,4
	A. wentii	-	-	33	24,6
	A. niger	-	-	21	14
	A. candidus	-	-	9	-
	Penicillium sp	12	2	21	17,5
	P. citrinum	1	1	14	-
Gonatobotrys	6	-	3	-	
M. sterilia	18	-	3	-	

La flora fúngica de la Pcia. de Buenos Aires se caracterizó por la

presencia de *Alternaria* y la ausencia total de especies de *Aspergillus* en los medios empleados. En las semillas desinfectadas se aislan *Alternaria* y *Penicillium* desapareciendo los otros hongos. Esto implica que sobre todo *Alternaria* es el contaminante interno (100% de contaminación). Se tomaron 30 cepas de *Alternaria* aisladas y se determinó su poder toxicogénico (Scott, 1980). Todas las cepas analizadas producían Alternariol y Mono metil eter del Alternariol), sustancias citotóxicas y mutagénicas que producen mortandad en ratas.

En la Pcia. de Córdoba las semillas presentaron un mayor grado de contaminación fúngica. El género *Alternaria* también fué aislado como contaminante superficial e interno. En esta zona geográfica se aislaron cepas de *Aspergillus flavus* y otras especies pertenecientes a este género en un porcentaje alto. El género *Penicillium* fue aislado también en un alto porcentaje. Los hongos aislados de semillas desinfectadas y sin desinfectar fueron similares.

Del total de cepas de *A. flavus* aisladas el 30% producían aflatoxinas, 37% sw *A. ochraceus* producían ocratoxina A y 12% de *P. citrinum* producían citrinina.

Análisis

Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten inferir que existe una marcada diferencia en cuanto a la contaminación por aflatoxinas y por *Aspergillus* en las dos áreas geográficas de producción de girasol, a pesar de que las condiciones climáticas son muy semejantes en cuanto a temperatura y precipitaciones (Ver Tabla 3) y el contenido de humedad de las semillas. El área de la Pcia. de Córdoba muestra una contaminación de 8% de muestras con aflatoxinas con un contenido bajo de toxina (12-20 mg/Kg). Hay que considerar que casi el 50% de las muestras de Córdoba estuvieron almacenadas hasta un período de 4 meses. Son las muestras que presentaron mayor porcentaje de contaminación. Estos datos nos confirman por un lado que las semillas de girasol son un sustrato apropiado para la producción de estas toxinas. Las diferencias entre los resultados de las 2 áreas podrían deberse a factores geográficos, manejo cultural y al hecho de que algunas muestras de la Provincia de Córdoba tuvieron un período de almacenamiento.

La presencia de *Alternaria* como principal contaminante de ambas áreas no es sorprendente ya que este hongo es común como patógeno en plantas de girasol y en general en las plantas Compuestas.

Bibliografía

- Casper, H.H. et al. Aflatoxin and fungal flora on Sunflower seeds, J. AOAC 64: 228-230, 1981.
- Dalcerro, A.M. et al. Hongos toxicogénicos y aflatoxinas en semillas de girasol, La Alimentación Latinoamericana, 130:58-60, 1980.
- Etcheverry, M. et al. Hongos toxicogénicos en semillas de girasol, maíz y soja en la planta y almacenado, La Alimentación Latinoamericana (en publicación).
- Hesseltine, C.W. Mycotoxin Research in India, Mycopathologia 58: 157-163, 1975.
- Informes a la Dirección Nacional INTA "Micotoxinas y hongos toxicogénicos en granos y subproductos de maní y otras oleaginosas de las cosechas 1977 a 1980".
- Llewellyn, G.C. et al. Evaluating the Potencial for Occurrence of Aflatoxin in Black Sunflower seeds, J. AOAC 75: 858-860, 1974.
- Mujica, M.T. et al. Aflatoxinas en granos almacenados II. Girasol, hongos productores, XI Jornadas Argentinas de Micología, 1979.
- Nagarajan, V. et al. Aflatoxin Production in Sunflower seed varieties, Curr, Sci. 43: 603-604, 1974.
- Official Methods of Analysis: 13th Ed AOAC 26: 032, 1980.
- Scott, P.M. et al. Mutagens produced by Alternaria alternata, Mutation Res. 78: 33-40, 1980.
- Stoloff, L. Aflatoxin and Zearalenone in dry-milled Corn, J. AOAC 60: 579-582, 1977.
- Varsavsky, E. et al. Aflatoxinas su detección en maní y suelos de la Pcia. de Córdoba, Rev. Asoc. Arg. Microbiol. Vol V (1). 3-4, 1973.
- Varsavsky, E. et al. Determination of Aflatoxins in Peanuts, Ann. Nutr. et Alim. 31: 359-544, 1977.