

INFLUENCIA DE LOS FACTORES EXTERNOS DURANTE LA COSECHA DEL MANÍ (ARACHIS HYPOGAEA L.) EN LA INCIDENCIA DE ASPERGILLUS FLAVUS LINK. Y LA CONTAMINACIÓN DE LAS SEMILLAS CON AFLATOXINAS.

Z. Fundora Mayor, O. Sánchez Regueiro, E. Hernández López, J. Fresneda Buides, D. de Armas, J. A. Soto Mena y J. Z. Alpízar López.

Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt” (INIFAT), Calle 2 esquina a 1 Santiago de las Vegas, Ciudad de la Habana, Cuba. E-mail: zfundora@inifat.co.cu

RESUMEN

La ocurrencia del hongo saprófito *Aspergillus flavus* Link. en las vainas y las semillas de maní (*Arachis hypogaea* L.), y la consiguiente contaminación de las mismas con la toxina producida por este microorganismo, constituyen un problema serio para la producción de maní en todo el mundo. Se estudió en este trabajo la incidencia natural de *Aspergillus flavus* Link. en semillas de maní de diferentes variedades de maní sembradas en dos tipos de suelo, así como la influencia del re-humedecimiento en esta incidencia a través de su simulación inducida en lotes de semilla procedentes del cultivar ‘P-317’. La aparición de *Aspergillus flavus* en las variedades de maní evaluadas en las condiciones de incidencia natural sugirieron la existencia de condiciones específicas de cosecha y manejo de plantas y vainas, así como la ocurrencia de condiciones climatológicas particulares durante esas dos siembras, que no fueron esclarecidas en los experimentos simulados posteriores. La exposición solar prolongada de las vainas de maní, aún después de su re-humedecimiento repetido en los procesos de post-cosecha y almacenaje parecen prevenir el desarrollo de *Aspergillus flavus* y la contaminación de sus semillas con aflatoxinas, aún en variedades susceptibles. El lavado y /o re-humedecimiento de las vainas de maní, inmediatamente después de la cosecha, no favorece la aparición de *Aspergillus flavus*, así como tampoco conspira contra la calidad de la semilla, si a esto sigue un secado solar intenso. Se recomienda profundizar en el estudio de otros factores que pudieran favorecer la incidencia de este hongo en la semilla y su consiguiente contaminación, para ofrecer una recomendación más concreta para el procesamiento, manejo y almacenaje de la cosecha.

Palabras clave: maní, aflatoxina, Aspergillus, post-cosecha, almacenamiento

INFLUENCE OF EXTERNAL FACTORS DURING PEANUT (ARACHIS HYPOGAEA L.) HARVEST ON THE INCIDENCE OF ASPERGILLUS FLAVUS LINK.AND SEED CONTAMINATION WITH AFLATOXINS.

ABSTRACT

The occurrence of the saprofitic fungus *Aspergillus flavus* Link. on peanut (*Arachis hypogaea* L.) pods and seeds, and their following contamination with the toxins produced by this microorganism, is a serious problem for peanut production all around the world. Natural incidence of *Aspergillus flavus* Link. was studied on peanut seeds from different varieties sowed in two different soils, as well as the influence of re-soaking of seeds on this incidence, through a simulated experiment in seed samples

from cultivar 'P-317'. The presence of *Aspergillus flavus* in peanut varieties evaluated under natural conditions, suggested the existence of specific conditions at harvest, with pods and seeds management, as well as particular converging climatic conditions during these two sowings, not clarified through the following simulated experiences, which were responsible for the obtained results. Long sun exposure of the pods, even after their repeated soaking at post-harvest and storage, seems to prevent the development of *Aspergillus flavus* and the contamination of seeds with aflatoxins, even in susceptible varieties. Washing and re-soaking of pods immediately after harvest, do not favour the appearing of *Aspergillus flavus*, neither conspire against seed quality, if are followed by an intense sun drying. It is recommended to go deeper in the study of other factors that could favour the incidence of the fungus on seeds and the following contamination, in order to offer a more precise technical advice for crop processing, management and storage.

Key words: peanut, aflatoxin, *Aspergillus*, post-harvest, storage

INTRODUCCION

La ocurrencia del hongo saprófito *Aspergillus flavus* Link. en las vainas y las semillas de maní (*Arachis hypogaea* L.), y la consiguiente contaminación de las mismas con la toxina producida por las cepas toxigénicas de este microorganismo, constituyen un problema serio para la producción de maní en todo el mundo (Huber, 2002), y aunque afecta a otros cultivos, éste resulta el más afectado (Vaamonde *et al.*, 2003). La presencia de estas toxinas es aún evidente en los productos elaborados (Reiss, 1982), y produce serios trastornos hepáticos (EHS, 2004).

Abundante literatura científica asegura que, más que un problema varietal Nagarajan y Bhat (1973), es un problema originado por las condiciones de la cosecha y la post-cosecha, sobre todo del método de secado y del re-humedecimiento de los frutos después que han alcanzado la madurez técnica y a la temperatura del suelo a la altura de las vainas en formación en las tres ó cuatro semanas previas a la cosecha (Cole *et al.*, 1985). Otros autores atribuyen importancia al tratamiento del suelo previo a la siembra o después que ha comenzado la floración. Así, afirman que el encalado de los suelos reduce la incidencia del hongo y la contaminación por aflatoxinas (Spinola y Cicero, 2000; Zuo *et al.*, 2000).

En siembras realizadas en campos de producción de 8 Empresas Tabacaleras de la provincia de Pinar del Río, se detectó la presencia de *Aspergillus* en todas las muestras evaluadas, pero en dos de ellas, no se detectó contaminación con aflatoxinas. Analizando las condiciones climatológicas en el momento de la cosecha, se pudo constatar que las muestras más contaminadas, procedían de las Empresas en que la cosecha se retrasó, y llovió antes de la recogida; esto sugiere que las lluvias y el re-humedecimiento de las vainas en algún momento después de la cosecha, favorece la aparición de este microorganismos y sus toxinas.

Se realizó el presente trabajo, con el objetivo de estudiar la incidencia natural de *Aspergillus flavus* Link. en semillas de maní de diferentes variedades de maní sembradas en dos tipos de suelo, así como la influencia del re-humedecimiento en esta incidencia a través de su simulación inducida en lotes de semilla procedentes del cultivar 'P-317'.

MATERIALES Y METODOS

Incidencia natural de *Aspergillus flavus*

Para estudiar la incidencia natural de *A. flavus* en diferentes cultivares de maní, se realizaron dos siembras, utilizando 13 variedades (Tabla 1), dispuestas en un diseño de bloques al azar con tres réplicas, sobre suelos Ferralítico Rojo y Ferralítico Cuarcítico Amarillo hidratado (Hernández *et al.*, 1995), respectivamente, en áreas del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT).

Se tomaron muestras de 400 semillas de cada variedad, colocándose en grupos de 100 semillas, en placas Petri con papel de filtro humedecido, evaluándose a los 8 días, en plena germinación, la incidencia del hongo. Lotes similares aleatorios procedentes de la misma muestra, se enviaron al Laboratorio de Toxicología de los Alimentos del Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos del Ministerio de Salud Pública, para la evaluación de la presencia de aflatoxinas en las muestras.

Para la simulación de las condiciones de re-humedecimiento durante la post-cosecha y el almacenamiento, se realizaron dos experimentos:

Experimento 1:

Se utilizó el cultivar tradicional 'P-317', que fue sembrado en nueve parcelas de un surco, de 2 m de longitud, con una distancia de camellón de 0.60 m, y 0.10 m de narigón, para un total de 40 plantas/parcela. El experimento fue dispuesto sobre suelo Ferralítico Rojo (Hernández *et al.*, 1995), en un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones. Se aplicaron las normas usuales del cultivo (Fundora *et al.*, 1994). En los extremos laterales derecho e izquierdo, se sembraron surcos no evaluables de la variedad comercial 'Cascjal Rosado', para eliminar los efectos de borde. Las nueve variantes experimentales fueron definidas en la cosecha y post-cosecha, según la descripción que se relaciona a continuación:

Variante 1: Secado solar durante 2 días, en el suelo, con las vainas vueltas hacia arriba.

Variante 2: Secado solar durante 3 días, en el suelo, con las vainas vueltas hacia arriba.

Variante 3: Secado en corriente de aire a temperatura ambiente, bajo cobertizo.

Variante 4: Humedecimiento después de la cosecha una vez (lavado de las vainas) y secado solar posterior.

Variante 5: Humedecimiento después de la cosecha dos veces (lavado de las vainas) y secado solar posterior intermedio (entre los dos lavados) y posterior al último lavado.

Variante 6: Lavado tres veces consecutivas después de la cosecha, con sus correspondientes secados al sol entre ellos.

Variante 7: Retraso de la cosecha por 5 días después de la madurez técnica y secado solar normal.

Variante 8: Retraso de la cosecha por 10 días después de la madurez técnica y secado solar normal.

Variante 9: Retraso de la cosecha por 15 días después de la madurez técnica y secado solar normal.

La cosecha de cada variante se dividió aleatoriamente en dos lotes de vainas absolutamente iguales, de los cuáles uno se destinó a las evaluaciones de la incidencia de *Aspergillus*, y el otro fue enviado al Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos del MINSAP para los análisis de laboratorio con vistas a comprobar la presencia o no de aflatoxinas.

Experimento 2:

Por último, con el objetivo de estudiar la influencia del re-humedecimiento en semillas almacenadas, se utilizó semilla seca de dos variedades: 'Ch-119-20' y 'M-021' (8% de humedad interna), apta para el almacenamiento, que habían resultado susceptibles a la incidencia de *A. flavus*. Se envasó la semilla en lotes de 500 g, en bolsas de lienzo, y fueron sometidas a tres variantes experimentales:

Variante 1: Humedecimiento con abundante agua, procediendo a su secado solar por dos días.

Variante 2: Humedecimiento con abundante agua, seguido de secado al sol por dos días y humedecimiento por segunda vez, seguido de secado solar.

Variante 3: Se procedió como en los casos anteriores pero humedeciendo tres veces.

Se utilizaron además dos controles, uno de cada variedad, los cuales no se humedecieron, y se secaron dos días al sol.

RESULTADOS Y DISCUSION

Incidencia natural de A.flavus y contaminación con aflatoxinas en variedades sembradas en dos tipos de suelo

Se detectó la presencia de *Aspergillus flavus* en 11 de la 13 variedades estudiadas (Tabla 2), algunas veces en convivencia con otras especies del género *Aspergillus*, o de otros géneros como *Penicillium* o *Rhizopus*. El porcentaje de afectación por *A. flavus*, sin embargo, no resultó demasiado alto, a excepción de su ocurrencia en las variedades 'Ch-119-20' y 'Bombay'.

La evaluación de la contaminación de los lotes de semilla de las diferentes variedades, procedentes de las siembras en dos tipos de suelo aparece en la Tabla 3. De las variedades afectadas por la incidencia del hongo en la siembra efectuada sobre suelo Ferralítico Cuarácico Amarillo hidratado, sólo los c.v. 'M-021' y 'A-47-57' presentaron contaminación con aflatoxina β_1 . Las variedades 'McCoy M-005', 'M-021' y 'NC-23' procedentes de los lotes cosechados sobre suelo Ferralítico Rojo, presentaron también contaminación con aflatoxina β_1 , con valores elevados, mientras que la variedad 'Cascajal Rosado' además presentó contaminación con aflatoxina G_1 .

Debemos hacer notar que estas muestras se re-humedecieron en el almacén después de cosechadas, lo que parece indicar que existe una relación entre el re-humedecimiento de la semilla en la post-cosecha, una vez iniciado el proceso de secado y la aparición de las aflatoxinas, no así entre la presencia de éstas y el re-humedecimiento del suelo antes de la cosecha.

En algunas de las variedades no se detectó la presencia de *Aspergillus* en las semillas y sí hubo contaminación con aflatoxinas, como es el caso del c.v. 'A-47-57' (Tablas 2 y

3). Esto puede ser debido a la distribución desigual del hongo y de la contaminación en las muestras aleatorias utilizadas, hecho reportado con anterioridad en la literatura internacional (Nagarajan y Bhat, 1973), o que la presencia del hongo fue muy leve, no detectable en el *test* biológico, pero si los productos de su metabolismo en el *test* químico, indicando una mayor sensibilidad de éste.

En otros casos, si bien se observó la presencia de *A. flavus*, no se detectó contaminación alguna con aflatoxinas, lo que puede ser atribuido a la razón anterior, o a que no existieron las condiciones idóneas para el desarrollo del mecanismo productor de aflatoxinas, o tal vez, la afectación de las semillas se produjo con cepas no toxigénicas del hongo (Nagarajan y Bhat, 1973).

Los resultados indicaron la aparición natural irregular de *A. flavus* en las variedades evaluadas, lo que sugirió la necesidad de realizar la simulación de algunos de los factores asociados a la cosecha y post-cosecha del maní, para estudiar la influencia de los mismos en la aparición y desarrollo de este hongo y en la contaminación de las semillas por aflatoxinas.

Efecto del retraso de la cosecha y del re-humedecimiento de las vainas durante el proceso de secado y almacenamiento de la semilla

Ninguna de las variantes utilizada presentó incidencia de *A. flavus*, ni contaminación con aflatoxinas, sugiriendo que el proceso de re-humedecimiento inmediatamente después de la cosecha o después de comenzado el secado, siempre que posteriormente se someta nuevamente a éste, no produce afectaciones en la calidad de las semillas, o que el c.v. utilizado tenga cierta resistencia a la invasión de sus semillas por el hongo; tampoco se observaron afectaciones ni contaminación en las variantes en que se retrasó la cosecha con respecto al momento óptimo de madurez técnica.

En el caso del re-humedecimiento de las vainas durante el proceso de almacenamiento, tampoco se presentaron afectaciones por este hongo, ni contaminación con aflatoxinas en ninguna de las dos variedades evaluadas.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La aparición de *Aspergillus flavus* en las variedades de maní evaluadas en las condiciones de incidencia natural sugirieron la existencia de condiciones específicas de cosecha y manejo de plantas y vainas, así como la ocurrencia de condiciones climatológicas particulares durante esas dos siembras que no fueron esclarecidas en los experimentos simulados posteriores.

La exposición solar prolongada de las vainas de maní, aún después de su re-humedecimiento repetido en los procesos de post-cosecha y almacenaje parecen prevenir el desarrollo de *Aspergillus flavus* y la contaminación de sus semillas con aflatoxinas, aún en variedades susceptibles.

El lavado y /o re-humedecimiento de las vainas de maní, inmediatamente después de la cosecha, no favorece la aparición de *Aspergillus flavus*, así como tampoco conspira contra la calidad de la semilla, si a esto sigue un secado solar intenso.

Se recomienda profundizar en el estudio de otros factores que pudieran favorecer la incidencia de este hongo en la semilla y su consiguiente contaminación, para ofrecer una recomendación más concreta para el procesamiento, manejo y almacenaje de la cosecha.

BIBLIOGRAFIA

- Cole, J. R., T. H. Sanders y R. A. Hill (1985):** Mean geocarposphere temperatures that induce preharvest aflatoxin contamination of peanut under drought stress. *Mycopathologia*, 91(1): 41-46.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=6803167&itool=iconabstr. Conectado en 21/07/04.
- EHS: Environmental, Health and Safety On Line (2004):** Aflatoxins in your food-and their effect on your health. <http://www.ehso.com/ehshome/aflatoxin.php>.
Conectado en 21/07/04.
- Humer, A. (2002):** Aspergillus Crown Rot: a doorway to TSWV. Peanut Grower, April 2002: www.peanutgrower.com/home/2002_AprilDisease.html. Conectado en 21/07/04.
- Nagarajan, V. y R. V. Bhat (1973):** Aflatoxin production in peanut varieties by *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. *Applied Microbiology* 25(2): 319-321.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=6803167&itool=iconabstr. Conectado en 21/07/04.
- Reiss, J. (1982):** Comparison of the ability of three *Aspergillus* strains to form aflatoxins on bakery products and on nutrient agar. *Mycopathologia*, 77(2): 99-102:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=6803167&itool=iconabstr. Conectado en 21/07/04.
- Spinola, M. C. M. Y S. M. Cicero (2000):** Physical and physiological qualities of groundnut seeds produced by plants treated with gypsum: I. Limed area. *Scientia Agricola* 57: 115-119.
- Vaamonde, G., A. Patriarca, V. Fernández Pinto, R. Comerio y C. Degrossi (2003):** Variability of aflatoxin and cyclopiazonic acid production by *Aspergillus section flavi* from different substrates in Argentina. *Int. J. Food Microbiology*, 88(1): 79-84.
- Zuo, Y. M., F. S. Zhang, X. L. Li y Y. P. Cao (2000):** Studies on the improvement in iron nutrition of peanut by intercropping with maize on calcareous soil. *Plant and Soil* 220: 13-25.

Tabla 1. Variedades utilizadas

Nombre del cultivar	Tipo comercial
A-65-102	Español
NTZKIT	Español
McCoy M-005	Español
A-47-57	Valencia
M-021	Valencia
Ch-119-20	Valencia
Zenit	Español
CEMSA	Valencia
ISKRA	Español
Bombay	Valencia
NC-23	Valencia
Cascajal Rosado	Valencia
P-317	Valencia

Tabla 2. Incidencia de *Aspergillus flavus* en condiciones naturales.

Nombre del cultivar	Porcentaje de semillas afectadas
A-65-102	3
NTZKIT	2
McCoy M-005	4
A-47-57	0
M-021	1
Ch-119-20	10
Zenit	1
CEMSA	4
ISKRA	3
Bombay	10
NC-23	1

Tabla 3. Contaminación con aflatoxinas de las muestras analizadas.

Suelo	Variedad	Toxina	Concentración (µg/kg)
Ferralítico Cuarcítico	McCoy M-005	Negativo	-
Ferralítico Cuarcítico	A-47-57	Aflatoxina β ₁	40
Ferralítico Cuarcítico	NTZKIT	Negativo	-
Ferralítico Cuarcítico	CEMSA	Negativo	-
Ferralítico Cuarcítico	M-021	Aflatoxina β ₁	6000
Ferralítico Cuarcítico	Zenit	Negativo	-
Ferralítico Cuarcítico	A-65-102	Negativo	-
Ferralítico Cuarcítico	Bombay	Negativo	-
Ferralítico Cuarcítico	ISKRA	Negativo	-
Ferralítico Cuarcítico	Cascajal Rosado	Negativo	-
Ferralítico Cuarcítico	Ch-119-20	Negativo	-
Ferralítico Rojo	Cascajal Rosado	Aflatoxina β ₁	400
		Aflatoxina G ₁	40
Ferralítico Rojo	CEMSA	Negativo	-
Ferralítico Rojo	NTZKIT	Negativo	-
Ferralítico Rojo	A-65-102	Negativo	-
Ferralítico Rojo	NC-23	Aflatoxina β ₁	120
Ferralítico Rojo	Bombay	Negativo	-
Ferralítico Rojo	A-47-57	Negativo	-
Ferralítico Rojo	Zenit	Negativo	-
Ferralítico Rojo	ISKRA	Negativo	-

Ferralítico Rojo	Ch-119-20	Negativo	-
Ferralítico Rojo	McCoy M-005	Aflatoxina β_1	640
Ferralítico Rojo	M-021	Aflatoxina β_1	800