

PRESENCIA DE MICOTOXINAS EN CEBADA CERVECERA (*Hordeum distichum* L.) Y SU RELACIÓN CON HONGOS CONTAMINANTES¹

**Yiniveth Pedreschi²; Martha de Von Chong³;
José Ángel Herrera-Vásquez⁴; Rito Herrera⁵**

RESUMEN

El estudio se enfoca en la identificación y cuantificación de micotoxinas en cebada cervecera que se utiliza como alimento para el ganado bovino criado en las instalaciones de Agro Biológicos de Panamá, una empresa situada en el Hato de San Juan de Dios, en el distrito de Aguadulce, provincia de Coclé. Se llevaron a cabo pruebas de cultivo con cuatro tipos de muestra de cebada cervecera: semilla seca, semilla tratada con desinfección previa, lixiviado y forraje, adicionalmente, se realizó un cultivo microscópico del pasto forrajero. Se pudo categorizar a los hongos como de almacenamiento. Se logró identificar géneros y especies que producen micotoxinas, como aflatoxinas y ocratoxinas, principalmente, siendo los géneros *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. los destacados en ambas muestras analizadas. También se pudo identificar el género *Trichoderma* sp. Por otra parte, se llevó a cabo una evaluación de los niveles de aflatoxinas antes y después de implementar medidas adicionales de prevención, control y manejo de factores de crecimiento, entre estos, temperatura, humedad y nivel de oxígeno, demostrando que el tratamiento fue efectivo, ya que los niveles detectados no excedieron los límites permitidos en Panamá. A partir de estos estudios se deduce que la supervisión constante de estas medidas garantiza el progreso hacia la dirección adecuada, donde se mantienen niveles mínimos o inexistentes de micotoxinas.

Palabras clave: *Aspergillus*, ELISA, forraje, *Penicillium*, *Trichoderma*.

¹Recepción: 12 de febrero de 2025. Aceptación: 11 de julio de 2025. Proyecto 501. B.03.12. IDIAP, SENACYT, AgroBiologicos de Panamá.

²Universidad de Panamá. Centro Regional Universitario de Azuero. Licenciatura en Biología.
e-mail: yiniveth.pedreschi@up.ac.pa ; ORCID iD: <https://orcid.org/0009-0002-7866-4125>

³Universidad de Panamá. Centro Regional Universitario de Coclé. Departamento de Microbiología.
e-mail: martha.chaves@up.ac.pa ; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-1087-4196>

⁴IDIAP. Centro de Innovación Agropecuaria Divisa (CIAD). Miembro Sistema Nacional de Investigación (SNI). Ph.D. Virología Vegetal. e-mail: joshervs11@gmail.com ; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-8437-5920>

⁵IDIAP. Centro de Innovación Agropecuaria Recursos Genéticos (CIARG). Ph.D. Microbiología.
e-mail: rhhv76@yahoo.es ; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-2509-0391>



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

PRESENCE OF MYCOTOXINS IN MALTING BARLEY (*Hordeum distichum* L.) AND ITS RELATIONSHIP WITH CONTAMINATING FUNGI

ABSTRACT

The study focuses on the identification and quantification of mycotoxins in malting barley used as feed for cattle raised at the facilities of Agro Biológicos de Panamá, a company located in Hato de San Juan de Dios, in the district of Aguadulce, Coclé province. Culture tests were conducted with four types of malting barley samples: dry seed, pre-disinfected seed, leachate, and forage. Microscopic cultures of forage grass were also performed. The fungi were categorized as storage fungi. Genera and species that produce mycotoxins, such as aflatoxins and ochratoxins, were identified, with the genera *Aspergillus* sp. and *Penicillium* sp. being the most prominent in both samples analyzed. The genus *Trichoderma* sp. was also identified. Furthermore, an evaluation of aflatoxin levels was conducted before and after implementing additional prevention, control, and growth factor management measures, including temperature, humidity, and oxygen levels, demonstrating that the treatment was effective, as the levels detected did not exceed the limits permitted in Panama. These studies suggest that constant monitoring of these measures ensures progress in the right direction, maintaining minimal or nonexistent levels of mycotoxins.

Keywords: *Aspergillus*, ELISA, forage, *Penicillium*, *Trichoderma*.

INTRODUCCIÓN

Al hablar de la nutrición animal, debemos comprender que esta tiene como objetivo satisfacer los requerimientos nutricionales de los animales, en cantidad y calidad, para que puedan de la manera óptima alcanzar los parámetros productivos y reproductivos que su potencial genético les permite, según su especie y fase productiva (San Miguel et al., 2018).

El ganado bovino, a pesar de ser principalmente herbívoro, puede recibir diferentes tipos de alimentación. Se les puede dar granos y forrajes, por ejemplo, alfalfa (*Medicago sativa*), sorgo (*Sorghum* sp.), maíz (*Zea mays*), cebada (*Hordeum vulgare*), ensilados, avena (*Avena sativa*) y diversos pastos (Portal Braford, 2018).



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

La cebada es uno de los granos más comúnmente utilizados en piensos para vacas lecheras y bovinos de engorde. Debido a su alta digestibilidad ruminal, la cebada tiene altos valores de energía metabolizable para los rumiantes (Biovet, 2019). Cuando se alimenta a los animales con grandes cantidades de concentrado, el porcentaje de ácido acético se reduce en un 40%, en cambio, el ácido propiónico aumenta más del 40%, incrementando la producción de leche, puesto que aumenta la cantidad de glucosa proveniente del ácido propiónico (Fernández, 2011).

La salud de los animales destinados al consumo humano está influenciada por una serie de elementos claves que pueden afectar su bienestar y calidad de vida. Es fundamental garantizar que los diversos aspectos de este ámbito se gestionen de manera responsable y ética para proteger la salud de los animales y, a su vez, de los consumidores.

A raíz de esta situación se hacen conocidas las micotoxinas a quien la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2003), las describe como metabolitos secundarios fúngicos capaces de desencadenar diversas alteraciones y cuadros patológicos en el hombre y los animales (Abarca et al., 2000). Su impacto en la salud de las personas, la productividad de los animales y el comercio nacional e internacional genera una gran preocupación a nivel mundial. Hasta el 2004 se habían detectado y clasificado más de 300 metabolitos provenientes de hongos filamentosos, estas sustancias son producidas principalmente por los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* (Olvera, 2021). Destacan micotoxinas tales como Aflatoxinas y Ocratoxinas, siendo las más conocidas y estudiadas. La primera de estas es capaz de provocar convulsiones, ceguera, caminata en círculos, ataxia, espasmos y temblores en terneros (Cuéllar, 2021a), sin embargo, en los seres humanos pueden llegar a reducir la inmunidad y a inhibir la proliferación celular y la síntesis de proteínas (Moral, 2017). En segundo lugar, tenemos las ocratoxinas, capaces de generar lesiones en los riñones y el hígado (Cuellar, 2021b).



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

En Panamá, existen dos normativas importantes que regulan los límites de aflatoxinas en alimentos destinados tanto para el consumo humano como para la alimentación de ganado. Sin embargo, es importante señalar que, hasta la fecha, no se tiene conocimiento de ningún documento oficial emitido por el gobierno panameño que oficialice de manera concreta estas normativas. La primera de ellas por parte de la Comisión del Codex Alimentarius estableció los niveles máximos de micotoxinas en los alimentos, que son muy bajos debido a su gran toxicidad. Por ejemplo, los niveles máximos de aflatoxinas establecidos en varios frutos secos, granos, higos secos y leche están en el rango de 0,5 a 15 µg/kg (FAO, 2023). La segunda norma conocida es establecida por el Gobierno Federal de los Estados Unidos donde el límite máximo permitido de 20 ppb para aflatoxinas en alimentos para humanos y vacas lecheras, en el caso, de leche para el consumo humano el nivel es de 0,5 ppb (Villarreal & Vega, 2019). No se tiene conocimiento de más normas u otro tipo de pautas en nuestro país referente a otras micotoxinas, sin embargo, la Autoridad panameña de Seguridad de Alimentos (AUPSA, 2009), a través del resuelto AUPSA - DINAN - 092- 2009, en su artículo 10 señala que esta misma entidad procederá a realizar muestreos de los alimentos que ingresen al territorio nacional para el análisis de entomología y otros análisis de tipo microbiológico, micotoxinas, características organolépticas, fisicoquímicos y residuos tóxicos.

Esta investigación tuvo como objetivo principal detectar y cuantificar micotoxinas en cebada cervecera (*Hordeum distichum* L.) para ganado bovino estabulado en el corregimiento de El Hato, distrito de Aguadulce, provincia de Coclé. El estudio realizado tuvo como referencia a la empresa Agro Biológicos de Panamá, la cual presentó inconvenientes con sus cultivos por la presencia de hongos patógenos, lo que conllevó a pérdidas y atrasos en la realización de sus proyectos.

A través de este estudio se buscó detectar micotoxinas que son potencialmente peligrosas para el ganado bovino, y que de manera directa afecta a los seres humanos al guardar una estrecha relación dentro de la cadena alimenticia. Dentro de este marco, se propuso aislar e identificar hongos productores de aflatoxinas y ocratoxinas en alimento para ganado estabulado y, al mismo tiempo, caracterizar los principales tipos de micotoxinas en alimento para ganado bovino estabulado. Se utilizó una metodología de



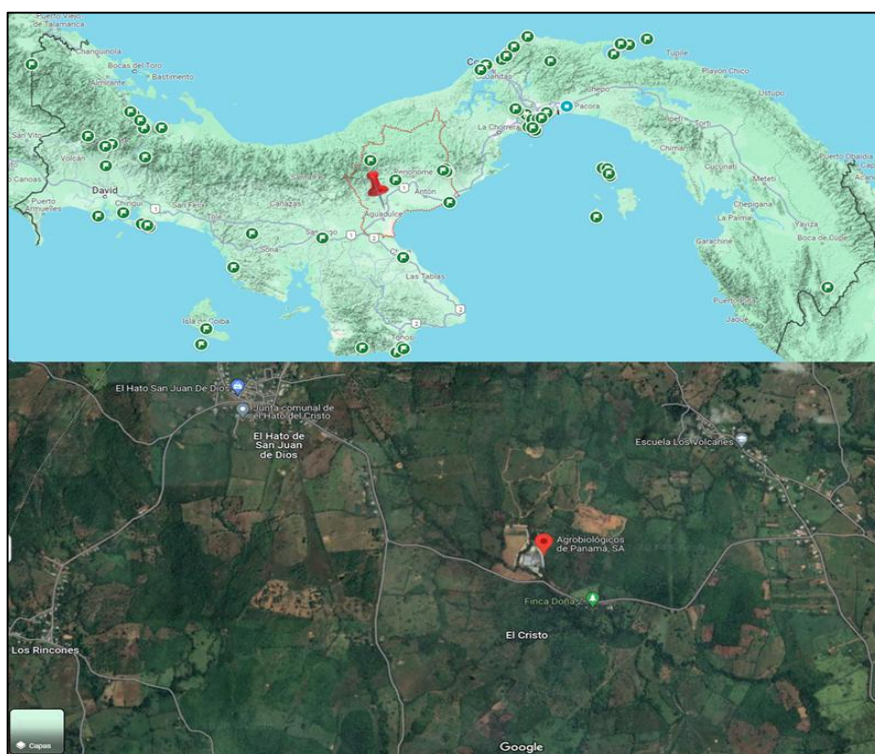
Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

análisis microbiológico que incluyó el aislamiento e identificación de diferentes morfotipos utilizando las claves de Watanabe (2018), además, se aplicó el ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA).

Cabe destacar que Panamá carece de información actualizada referente al tema señalado, debido a la falta de estudios que caractericen las micotoxinas en el alimento de ganado bovino estabulado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de AgroBiológicos de Panamá, situado en el corregimiento del Hato de San Juan de Dios, distrito de Aguadulce, provincia de Coclé, de febrero a mayo 2023. La ubicación geográfica puede observarse en la Figura 1.



Fuente: Google, 2024.

Figura 1. Ubicación geográfica del lugar de estudio.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Se tomaron 10 g de muestras de semillas de cebada cervecera en dos condiciones: semillas secas o sin tratamiento previo y semillas que fueron sometidas a un proceso de desinfección, el cual consiste en un lavado con cloro en gel, seguido de 18 horas en hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). Vieira et al. (2005) reportaron que esta solución posee un pH 12 altamente alcalino que le confiere el poder de inhibir la actividad enzimática de los microorganismos. Finalizado el tiempo mencionado se procedió a realizar un lavado adicional con cloro líquido. Castillo et al. (2015) señalan en su investigación que este compuesto es capaz de actuar como un fungicida. En último lugar, antes de cultivar las semillas, estas se remojaron en peróxido de hidrógeno (H_2O_2). En este sentido, hay que resaltar que, según Garmendia & Vero (2006), el poder oxidante de este compuesto posee actividad antimicrobiana.

Las semillas fueron sometidas a un lavado con agua desionizada previo a la ejecución de cada paso. Se tomó en consideración los niveles de temperatura, oxígeno y humedad para evitar el crecimiento de hongos y bacterias.

El forraje utilizado fue producido a partir de semillas germinadas en bandejas de poliestireno, mediante un sistema de cultivo hidropónico, mientras que, el lixiviado se obtuvo recolectando el agua de riego que se filtraba a través de las bandejas de cultivo de cebada cervecera, tomando muestras de 10 mL en vasos químicos de 25 mL. El cultivo de la cebada cervecera se realiza de manera hidropónica para alimentar el ganado bovino lechero, controlando las variables de temperatura, humedad, nivel de oxígeno del entorno, optimizando el crecimiento del cultivo, reduciendo el consumo de agua y obteniendo cosechas durante todo el año.

1. Análisis microbiológico externo

Para determinar los niveles de contaminación presentes en las muestras, se realizó un examen diagnóstico (Cuadro 1) como línea base para este estudio. El análisis utilizado fue bajo el método Oficial AOAC 2001.06 (AOAC International, 2001), el cual ha sido validado y estandarizado para garantizar resultados precisos y confiables en el análisis de alimentos, productos químicos y demás. Es conveniente señalar que la incertidumbre reportada corresponde a un nivel de confianza del 95% y un factor de ampliación (K) de 2.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Cuadro 1. Análisis de micotoxinas.

Micotoxina	Resultado	Límite Máximo	Límite mínimo de cuantificación	Unidad
Aflatoxina	33,95	20		ppb
Ocratoxina	7,47	20		ppb
Fumonisin	<1,0	500	No Aplica	ppm
Toxina T-2	28,54	800		ppb
Deoxinivalenol	<0,25	500		ppm
Zearalenona	<25,0	250		ppb

2. Procesamiento de las muestras (Homogenización y Diluciones)

Para procesar las muestras de cebada cervecera tratadas y pasto forrajero, se pesaron 10 g de cada muestra y se colocaron dentro de una bolsa estéril para preparar la solución madre. Seguidamente, se añadieron 95 ml de agua estéril. Se agitó manualmente para homogeneizar, de esta forma se obtuvo la dilución 10^{-1} . Posteriormente, se tomaron 10 mL de esta dilución y se añadieron a un frasco que contenía 90 mL de agua destilada, obteniendo así la dilución 10^{-2} . De la dilución 10^{-2} , se extrajo 1 mL y se transfirió a otro frasco con 99 mL de agua estéril, logrando la dilución 10^{-4} . A partir de esta, se tomó 1 mL y se añadió a otro frasco con 99 mL de agua estéril, obteniendo la dilución 10^{-6} . Por otro lado, se tomó 1 mL de la dilución 10^{-1} y se incorporó a un frasco con 99 mL de agua estéril, conformando la dilución 10^{-3} . A partir de esta, se tomó 1 mL y se añadió a 99 mL de agua estéril, obteniendo la dilución 10^{-5} .

Con la muestra del lixiviado se utilizaron 10 mL y se realizaron las diluciones seriadas de esta muestra. Se analizaron las diluciones de 10^{-3} hasta 10^{-6} . Con ayuda de una pipeta estéril de 1 ml, se tomó 0,1 ml y se añadió a un plato Petri con medio PDA + ácido láctico + cloranfenicol previamente preparado y se procedió a esparcir (esparcidores plásticos estériles). Esto se realizó con todas las diluciones de las cuales se efectuaron a cada una sus respectivas réplicas.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

3. Análisis microbiológico

3.1. Aislamiento

El aislamiento de los hongos se realizó a partir de los cultivos obtenidos de las diferentes diluciones. Se procedió, utilizando una pinza estéril, a tomar un segmento de hifas de cada cultivo correspondiente a cada dilución. Estos segmentos fueron transferidos a nuevas placas Petri que contenían agar papa dextrosa (PDA) para favorecer el desarrollo de cultivos puros. Las placas fueron incubadas a 25°C - 28°C, fueron revisados periódicamente para verificar la ausencia de contaminantes y asegurar la pureza de los aislamientos (Estrada et al., 2025).

3.2. Caracterización de morfotipos mediante el método de microcultivo

Para la identificación taxonómica se realizaron montajes semipermanentes mediante el método de microcultivo. Esta técnica fue adaptada en este estudio para optimizar la visualización de estructuras fúngicas. La modificación consistió en utilizar una cámara húmeda con papel toalla estéril en lugar de los palillos cortados tradicionalmente empleados para sostener el cubreobjeto. El procedimiento fue guiado por el protocolo descrito en el material práctico de la Universidad Nacional de Formosa (2017).

4. Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA)

La detección y cuantificación de aflatoxinas se llevó a cabo mediante la técnica ELISA utilizando el kit Veratox® para aflatoxinas (Neogen Corporation, 2018). Las muestras de semilla seca y semilla tratada de cebada cervecera, así como, el pasto forrajero fue triturado para su homogenización. Posteriormente, se procedió con la extracción utilizando una solución de metanol al 70% (v/v), siguiendo las indicaciones del manual del fabricante. Los extractos obtenidos fueron filtrados y utilizados directamente en el ensayo.

La prueba se realizó en un lector de micropocillo EPOCH con filtro de 650 nm para obtener densidades ópticas (D.O.). Las D.O. de los controles formaron la curva estándar, mientras que las D.O. de la muestra se trazaron contra la curva para calcular la concentración exacta de aflatoxina (Neogen Corporation, 2018). Todos los ensayos se realizaron por duplicado, y los resultados fueron evaluados estadísticamente mediante pruebas no



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

paramétricas (Wilcoxon (1945), Kruskal-Wallis (1952) y Shapiro-Wilk), debido a la distribución no normal de los datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Análisis microbiológico externo

La aflatoxina supera el límite permitido (20 ppb) establecido por el Gobierno Federal de Estados Unidos, tanto para humanos como para vacas lecheras (Villarreal & Vega, 2019). En contraste, las demás micotoxinas analizadas se encuentran muy por debajo del límite establecido para cada una de ellas. Es importante tener en cuenta que los niveles detectados están relacionados con el proceso de ensayo y error al que se sometieron las muestras para su cultivo hidropónico, lo que puede afectar la precisión y confiabilidad de los resultados. Tras obtener estos resultados, la empresa decidió reforzar las medidas de seguridad en el área de producción, incluyendo controles más estrictos como el uso de uniformes y equipos de protección personal desechables. Los niveles de micotoxinas encontrados en el presente estudio indican la importancia de seguir desarrollando estrategias efectivas de control, y adoptar medidas preventivas para minimizar su impacto en la salud pública, con la finalidad de garantizar la calidad y seguridad de los alimentos. Durante este período, se optó por no utilizar estos cultivos para la alimentación de las vacas, priorizando su salud y bienestar. Después de un tiempo prudente, aproximadamente 6 meses, se llevó a cabo esta nueva investigación para evaluar si las medidas implementadas habían tenido efecto.

2. Identificación de especies fúngicas

La identificación microscópica fue desarrollada con ayuda de las claves de Watanabe (Watanabe, 2018) (Cuadro 2).

Los aislamientos fúngicos obtenidos a partir de las muestras analizadas pertenecen a géneros como *Aspergillus*, *Penicillium* y *Trichoderma*, además de micelio estéril observado en varias muestras (Cuadro 2)., en particular, dentro del género *Aspergillus* sp, se detectaron especies tal como *Asp. ochraceus* en muestra de cebada forrajera observando su colonia oscura y aterciopelada en medio PDA, así como vesículas globosas características con conidios negros adheridos en cadenas radiales confirman su



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

identificación. Así como la especie *Asp. niger* en muestra de cebada cervecera (Figura 5). El género *Penicillium* (Figura 2) estuvo presente en ambos tipos de muestras, destacando la especie *frequentans* (Figura 3) en cebada cervecera, mientras que, el género *Trichoderma* caracterizado por su rápido crecimiento en PDA (A) (Figura 4) se observó en cebada cervecera presentando conidióforos ramificados y conidios elípticos de superficie rugosa. En otras muestras se observó micelio estéril con crecimiento denso y filamentos ramificados, posibles estructuras esporulada encapsulada y conidióforos ramificados con fiálides y conidios esféricos pigmentados, lo cual sugiere la posibilidad de que cuya esporulación no se manifiesta en condiciones estándar de cultivo.

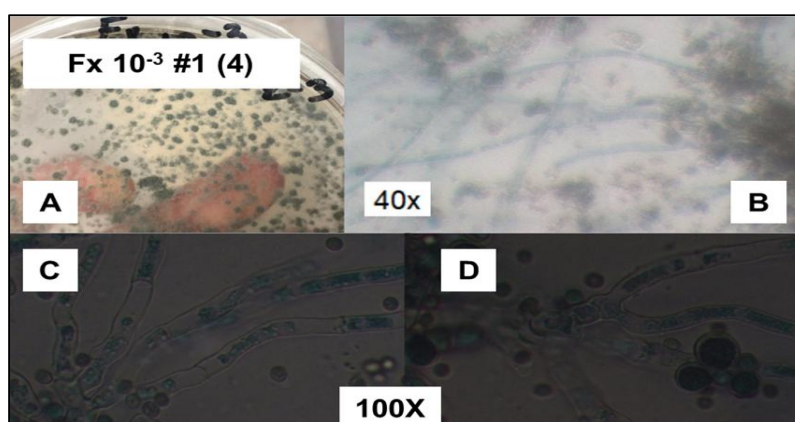


Figura 2. *Penicillium* sp. en pasto forrajero . Imagen macroscópica (A) y microscópica (B, C y D) en medio PDA para muestra de forraje forrajero de cebada forrajera.

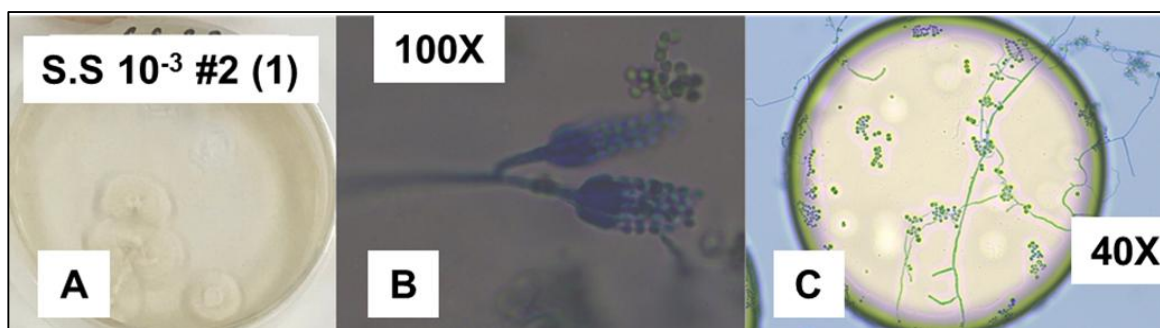


Figura 3. *Penicillium frequentans* en semilla seca de cebada cervecera. Imagen macroscópica (A) y microscópica (B y C) en medio PDA para muestra de semilla seca/ sin tratamiento de cebada cervecera.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

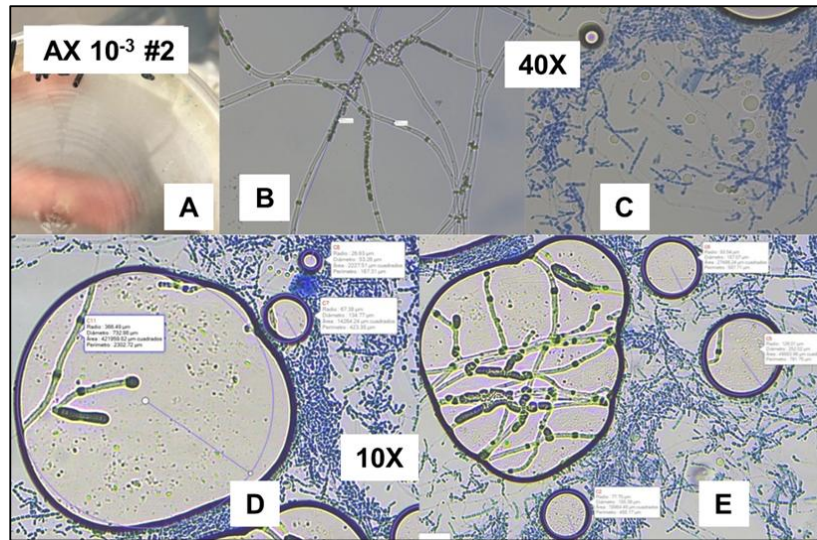


Figura 4. *Trichoderma* sp. en forraje cervecero. Imagen macroscópica (A) y microscópica (B, C y D) en medio PDA para muestra de forraje cervecero de cebada cervecera.

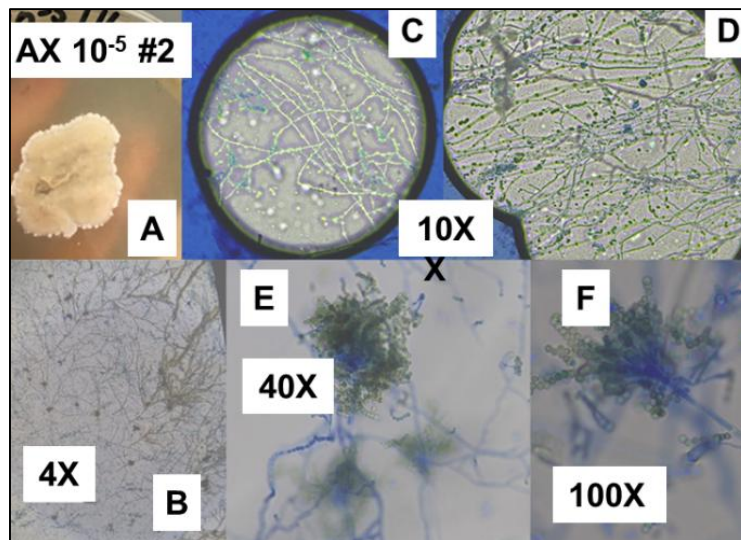


Figura 5. *Aspergillus niger* en forraje cervecero. Imagen macroscópica (A) y microscópica (B, C, D, E y F) en medio PDA para muestra de forraje cervecero de cebada cervecera.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Las cepas identificadas corresponden a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*. En este sentido, Moreno (1979) los clasifican en hongos de almacén debido a su capacidad de infectar los granos con niveles de humedad relativamente bajos. Además, Arce & Reyes (2021) señalan que estos dos géneros están relacionados con la producción de micotoxinas. Para el género *Aspergillus* sp. se identificaron dos especies: *A. ochraceus*, perteneciente a la sección Circumdati, y *A. niger*, perteneciente a la sección Nigri, (Cuadro 2). Gómez et al. (2021) describen este género como mohos filamentosos de distribución cosmopolita que participan en diferentes procesos en la naturaleza. *Aspergillus ochraceus* es conocido por ser un productor de ocratoxina A (OTA), según lo señalan Ostry et al. (2013) y Perusia & Rodríguez (2017). Estos últimos autores indican que OTA, a concentraciones moderadas es nefrotóxica, mientras que a concentraciones altas puede ser hepatotóxica. Por otro lado, López et al. (2000), reportan que dicha especie fúngica es productora dominante en climas tropicales y subtropicales. Algo semejante ocurre *A. niger*, en donde Chuaysrinule et al. (2020), confirman que *A. niger* es productor de OTA a una concentración de 25,2 ng/g. Por otro lado, Ostry et al. (2013), reportan esta micotoxina como carcinógeno completo.

Cuadro 2. Géneros y especies identificadas con ayuda de las claves Watanabe, 2018.

Tipo de muestra	Dilución	Especie fúngica
Pasto forrajero	Fx 10 ⁻³ #1	<i>Micelio esterilia</i>
	Fx 10 ⁻³ #1 (1)	<i>Aspergillus ochraceus</i>
	Fx 10 ⁻³ #1 (2)	<i>Micelio esterilia</i>
	Fx 10 ⁻³ #1 (4)	<i>Penicillium</i> spp.
Semilla seca de cebada cervecera	S.S 10 ⁻³ #2 (1)	<i>Penicillium frequentans</i>
	S.S 10 ⁻³ #1	<i>Trichoderma</i> spp.
Forraje cervecero	Ax 10 ⁻³ #2	<i>Trichoderma</i> spp.
	Ax 10 ⁻⁵ #1 (2)	<i>Micelio esterilia</i>
	Ax 10 ⁻⁵ #1 (L)	<i>Micelio esterilia</i>
	Ax 10 ⁻⁵ #2	<i>Aspergillus niger</i>



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Estos resultados respaldan la afirmación de López et al. (2000), de que estas dos especies de *Aspergillus* son productoras de ocratoxinas. Se identificó como el segundo tipo de hongo de almacén a *Penicillium*, logrando determinar una especie, *P. frequentans*, en dos de las muestras estudiadas. Aunque esta especie no es productora de micotoxinas, su presencia es un indicador de posibles contaminantes en alimentos. Según Abarca et al. (2000), el género *Penicillium* tiene el potencial de producir OTA, mientras que Vargas et al. (2023) han asociado este género con la producción de citrinina y patulina. Adicional, se identificó el género *Trichoderma*, que podría haberse desarrollado producto de contaminación, ya que donde se realizaron los cultivos fabrica productos biológicos y utiliza este género fúngico.

En cuanto a micotoxinas, se detectó la presencia de aflatoxinas en la muestra de pasto forrajero, correlacionada con la presencia del género *Aspergillus* spp, y en las muestras de cebada cervecera con *Penicillium* spp. se identificó la posible producción de ocratoxinas, evidenciando así la potencial implicancia toxicológica de los hongos aislados en los distintos sustratos analizados (Cuadro 3).

Cuadro 3. Micotoxinas encontradas.

Micotoxina encontrada	Género	Tipo de muestra
Aflatoxina	<i>Aspergillus niger</i>	Forraje cervecero
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	Pasto forrajero
Ocratoxinas	<i>Penicillium frequentans</i>	Pasto forrajero
	<i>Penicillium</i> spp	Semilla seca de cebada cervecera

3. Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA)

Se llevaron a cabo pruebas durante los meses comprendidos entre marzo y mayo de 2023 con un intervalo de 15 a 30 días, utilizando la técnica de ELISA. Los datos obtenidos ofrecen una visión detallada de la actividad inmunológica de las muestras analizadas. Según la investigación, se encontró que en promedio hay 15,813194 ppb de aflatoxinas. Se registró una reducción de 18,36806 ppb comparativamente con el estudio



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

llevado a cabo en 2022, de modo que, el enfoque riguroso en las medidas preventivas y el monitoreo constante de las condiciones del cultivo han demostrado ser clave en la reducción de contaminantes en los alimentos, garantizando la seguridad alimentaria y la salud de los consumidores.

Al observar los datos de la Figura 6, se puede apreciar que ambos tipos de semillas presentaron concentraciones de aflatoxinas significativamente por debajo del límite máximo. De manera similar, en la Figura 7, los resultados se mantienen dentro de los límites establecidos. De forma inesperada, se produjo un cambio en los resultados de las concentraciones en la Figura 8 y 9.

Cabe señalar que, las semillas tratadas de cebada cervecera registraron valores que se aproximaron al límite establecido, destacando que la muestra 2 excedió dicho umbral (Figura 8). En contraposición, las semillas secas exhibieron concentraciones inferiores al límite permitido. En esta misma línea, los resultados de la Figura 9 evidencian que ambas muestras de semillas de cebada cervecera superaron el límite máximo de 20 ppb fijado por el Gobierno Federal de los Estados Unidos para esta micotoxina en alimentos destinados al consumo humano y a vacas lecheras, según lo indicado por Villarreal & Vega (2019).

Estos resultados obtenidos se encuentran por debajo del límite máximo permitido de 20 ppb establecido por el Gobierno Federal de los Estados Unidos para esta micotoxina en alimentos para humanos y vacas lecheras, tal y como lo señalan Villarreal & Vega (2019) en su estudio. Por lo tanto, se demuestra la efectividad de un tratamiento que utiliza tres compuestos, siendo el primero de ellos el cloro. Un estudio realizado por Wu et al. (2000), muestra que el cloro es capaz de reducir 6 log₁₀ UFC/g la carga de *Shigella sonnei* en hojas de perejil al sumergirlas en una solución de 200 ppm de cloro libre durante 5 minutos. En otro estudio, se utilizó peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 5% durante 2 minutos, lo que provocó una reducción de 3,0₁₀ UFC/cm² en la carga de *Salmonella* sp. (Ukuku, 2004). Por otro lado, se utilizó hidróxido de calcio (Ca (OH)₂), el cual es un agente desnaturalizante de proteína y bactericida debido a sus grupos H⁺ y OH⁺ disociados. En este sentido, se conoce que los hidróxidos son más efectivos por su alta disociación, lo que permite al catión metálico ejercer una acción tóxica directa, según lo señalado por Calderón (2005).



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

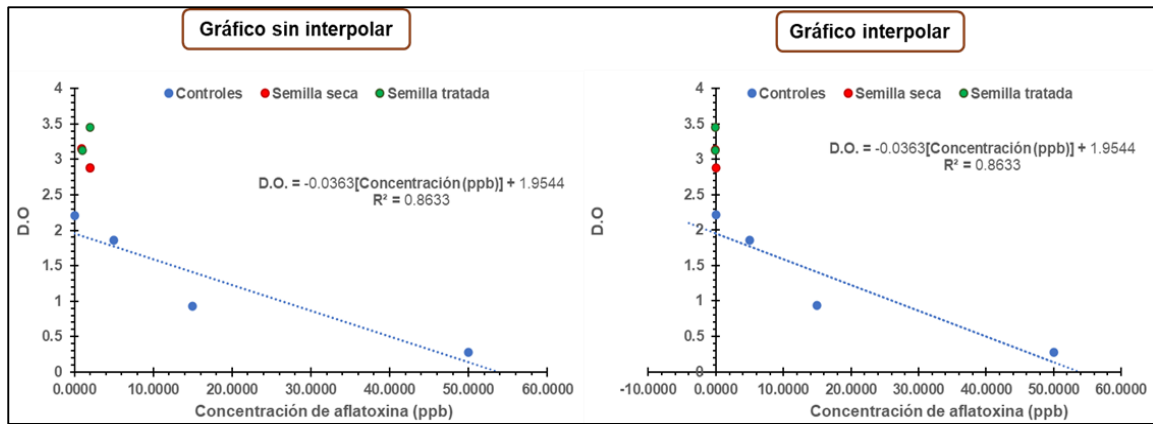


Figura 6. Ensayo de ELISA #1.

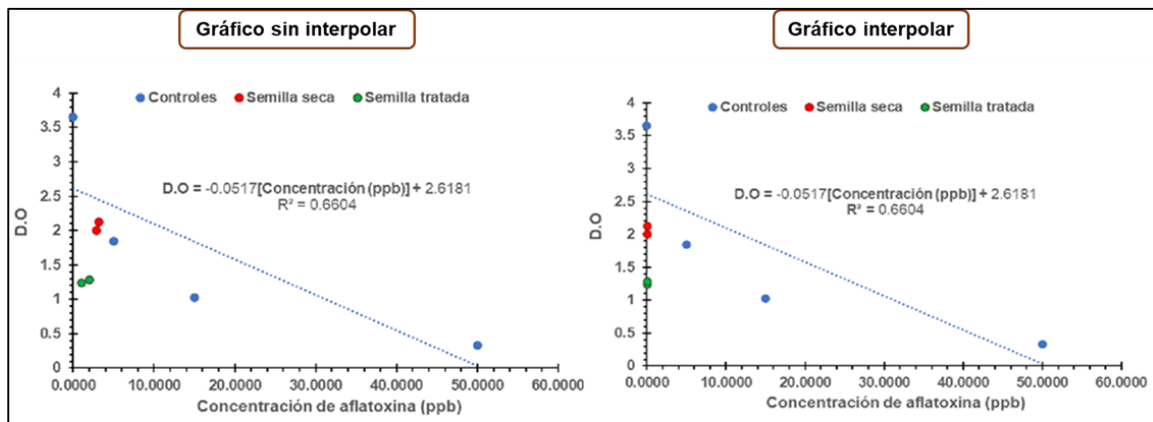


Figura 7. Ensayo de ELISA #2.

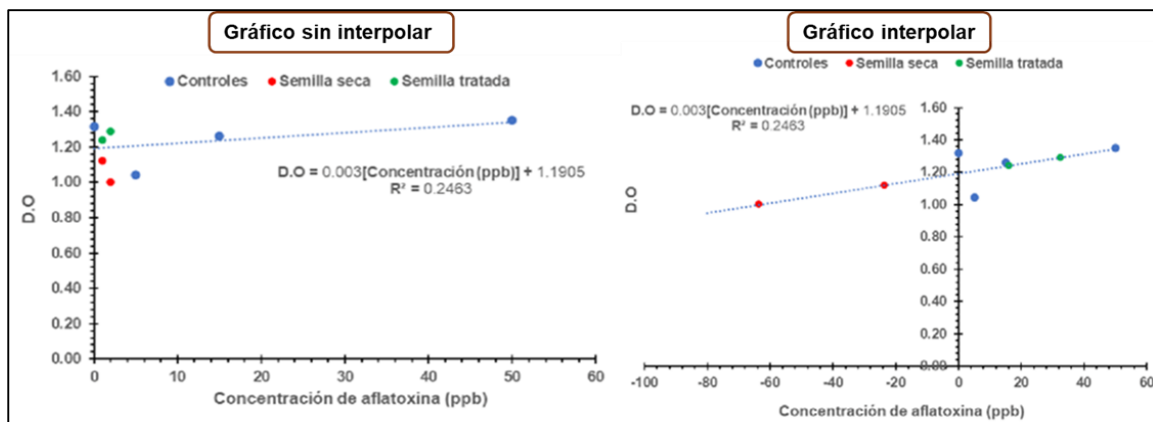


Figura 8. Ensayo de ELISA #3.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

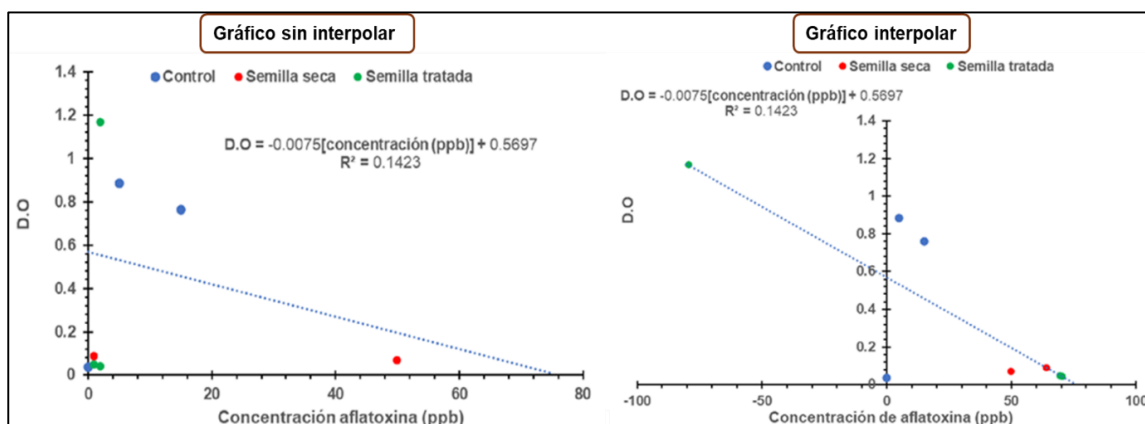


Figura 9. Ensayo de ELISA #4.

Para determinar la concentración final de aflatoxinas, obviando los datos negativos, se aplicó la prueba Wilcoxon, una prueba no paramétrica que compara el rango medio de dos muestras relacionadas y determina si existen diferencias entre ellas (Wilcoxon, 1945), en conjunto con la prueba Kruskal-Wallis, la cual busca establecer si un conjunto de datos proviene de la misma población (Kruskall y Wallis, 1952), cuyos resultados se presentan en la Figura 10. Demostrando que no hay diferencias significativas en la concentración de aflatoxina entre la semilla tratada y semilla seca ($Z = 1,81$, $p = 0,0705$).

En cuanto a los promedios de cada muestra, se observa que la semilla seca presentó una concentración de aflatoxinas menor ($8,355 \pm 9,5725$) en comparación con la semilla tratada ($23,5908 \pm 9,5725$). Por otro lado, se observó que la variación ($27,36265$ ppb) indica que las concentraciones varían considerablemente entre ellas. Adicionalmente, la mediana (RIC) obtuvo un valor de $0,02885377$ ($0,0 - 28,42$) ppb. También, se realizó la prueba de Shapiro-Wilk debido a que se trabajó con datos no normales, con la finalidad de comparar las medias de ambos tipos de semillas, obtenido resultados de $W = 0,617400$, $p = 0,00002373509084$ (no normal).



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

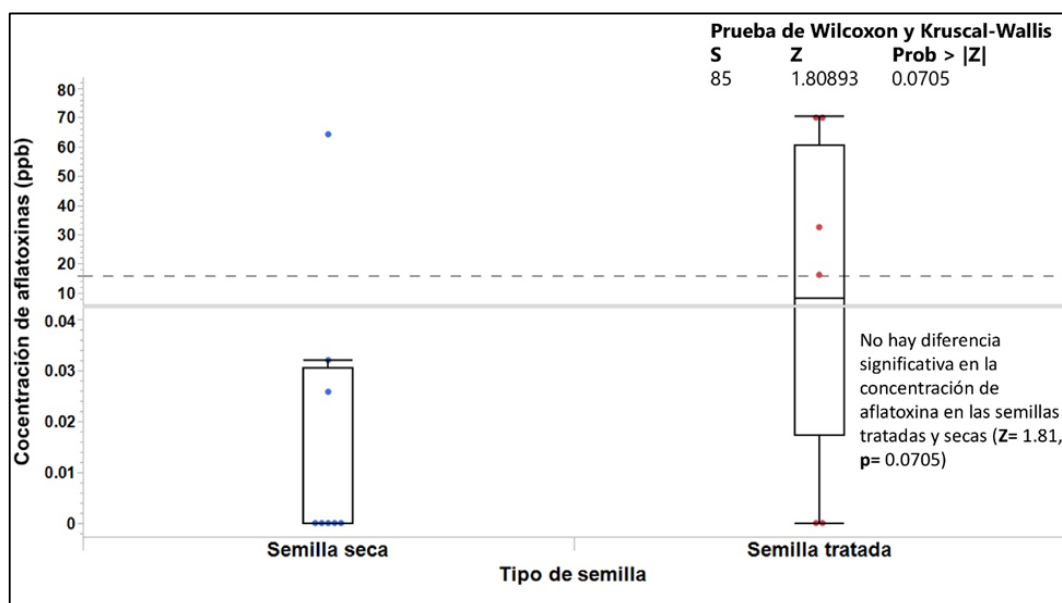


Figura 10. Prueba de Wilcoxon (1945) y Kruskal – Wallis (1952).

CONCLUSIONES

- Los aislamientos fúngicos realizados se agruparon en hongos de almacenamiento, basado en sus características morfológicas y microscópicas, como *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp., quienes se destacan por ser productores de aflatoxinas y otras micotoxinas.
- En cada muestra analizada de semilla de cebada cervecera y cebada forrajera se encontraron los géneros y especies *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium frequentans*, *Aspergillus niger*, simultáneamente, se identificó *Trichoderma* sp.
- Se logró reducir los niveles de aflatoxinas por debajo del estándar establecido por las autoridades federales de Estados Unidos para la comida, tanto para humanos como para vacas lecheras, gracias a las medidas implementadas en el presente estudio.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

REFERENCIAS

- Abarca, L., Bragulat, R., Castellá, G., Accensi, F., & Cabañes, J. (2000). Hongos productores de micotoxinas emergentes. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17, S63-S68. https://www.researchgate.net/publication/239603267_Hongos_productores_de_micotoxinas_emergentes
- AOAC International. (2001). Official Method 2001.06: Total fumonisins in corn by competitive direct ELISA [PDF]. AOAC Official Methods of Analysis. http://www.aoacofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&cPath=1&products_id=1601
- Arce, J. B., & Reyes, S. (2021). *Determinación de Aflatoxinas en alimento balanceado para perros*. [Tesis de grado, Universidad de Guayaquil]. Repositorio institucional. Universidad de Guayaquil. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/57305>
- Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos. (2009). Resuelto AUPSA - DINAN - 092-2009. Gaceta Oficial Digital, No. 26390-A, 16 de octubre de 2009. [https://sit.apa.gob.pa/aupsa/requisitos/Aupsa%20Dinan-092-2009%20\(2\).pdf](https://sit.apa.gob.pa/aupsa/requisitos/Aupsa%20Dinan-092-2009%20(2).pdf)
- Biovet, S.A. (2019). Cereales alternativos en alimentación animal. *Veterinaria digital*. <https://www.veterinariadigital.com/en/articulos/alternative-cereals-in-animal-feed/>
- Calderón, K. (2005). *Comparación del efecto desinfectante de hidróxido de calcio vrs. Una mezcla de ácidos orgánicos y surfactantes, aplicados en pediluvios de una granja avícola en el departamento de Guatemala*. [Tesis de grado, Universidad de San Carlos De Guatemala]. Repositorio del sistema bibliotecario, USAC. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_0842.pdf
- Castillo, D., Bautista, A., Ávila, D., Sáenz, J., & Castillo, F. (2015). Tratamientos químicos y biológicos para estimular la germinación en semillas de *Nolina cespitifera* Trel. *Polibotánica*, 45, 147-156. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.45.11>



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

- Chuaysrinule, C., Maneeboon, T., Roopkham, C., & Mahakarnchanakul, W. (2020). Occurrence of aflatoxin- and ochratoxin A-producing *Aspergillus* species in Thai dried chilli. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2, 100054. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2020.100054>
- Cuéllar, J. (2021a). Aflatoxinas en Rumiantes: ¿Qué efectos tienen? *Veterinaria Digital*. <https://www.veterinariadigital.com/articulos/aflatoxinas-en-rumiantes-que-efectos-tienen/#:~:text=Los%20efectos%20agudos%20de%20la,%2C%20anemia%2C%20epistaxis%20y%20melena>
- Cuéllar, J. (2021b). Micotoxinas en forrajes para vacas: ¿Qué efectos tienen?. *Veterinaria Digital*. <https://www.veterinariadigital.com/articulos/micotoxinas-en-forrajes-para-vacas-que-efectos-tienen/>
- Estrada, M., Rachell, J., Herrera, R., Rodríguez, L., Montañez, D., Navarro, G., & Martínez, Álex. (2025). Aislamiento e Identificación de la micobiota de suelos dedicados al cultivo de tomate en Azuero. *Ciencia Agropecuaria*, (40), 100-124. <http://www.revistacienciaagropecuaria.ac.pa/index.php/ciencia-agropecuaria/article/view/667>
- Fernández, M. (2011). Cereales procesados en la nutrición del vacuno lechero. *Mundo Ganadero*. https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_MG%2FMG_2011_238_32_36.pdf
- Garmendia, G., & Vero, S. (2006). Métodos para la desinfección de frutas y hortalizas. *Revista Horticultura*. https://www.horticom.com/revistasonline/horticultura/rh197/18_27.pdf
- Gómez, M., Arboleda, J., & Mosquera, O. (2021). Género *Aspergillus*: Fuente potencial de péptidos bioactivos. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 17(1), 73-89. <https://doi.org/10.18359/rfcb.5610>



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

- Google. (2024). [Captura de pantalla de Google Maps que muestra la ubicación de El Hato, Aguadulce, Panamá]. <https://shorturl.at/x6gc1>
- Kruskal, W. H., & Wallis, W. A. (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association*, 47(260), 583-621.
<https://doi.org/10.2307/2280779>
- López, A., Jiménez, A., Ezpeleta, O., & Bello, J. (2000). Efectos tóxicos de la Ocratoxina A. *Revista de Toxicología*, 17 (2), 61-69.
<https://rev.aetox.es/wp/wp-content/uploads/2020/12/revtox.17.2.2000.61-69.pdf>
- Moral, A. (2017). *Aflatoxinas B1 y M1: Problemática y Métodos de análisis para su determinación en piensos y leche*. [Tesis grado, Universidad de Jaén].
<https://crea.ujaen.es/items/30ae8352-e3a5-4601-b316-038f6a08f6ee>
- Moreno, E. (1979). Efecto de los hongos de almacén sobre la viabilidad de las semillas de maíz y soya. *Scientia Fungorum*, 2(13), 195-203.
<https://doi.org/10.33885/sf.1979.2.505>
- Neogen Corporation. (2018). Manual Veratox para aflatoxina. Prueba cuantitativa.
https://www.neogen.com/49a853/globalassets/pim/assets/original/10033/official_8_030_veratox-for-aflatoxin_procedures_es.pdf
- Olvera, E. (2021). Micotoxinas, los enemigos silenciosos. Ganaderia SOS.
<https://ganaderiasos.com/2021/07/18/micotoxinas-los-enemigos-silenciosos/>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2003). Manual sobre la aplicación del sistema de análisis de peligros y de puntos críticos de control (APPCC) en la prevención y control de las micotoxinas.
<https://www.fao.org/4/y1390s/y1390s00.htm>



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Ostry, V., Malir, F., & Ruprich, J. (2013). Producers and important dietary sources of ochratoxin A and citrinin. *Toxins (Basel)*, 5 (9), 1574-1586.

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3798874/>

Perusia, O., & Rodríguez, R. (2017). *Ochratoxina, A-Citrinina Y Ácido oxálico*. Plantas tóxicas y micotoxinas. Sitio argentino de producción animal.

https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/Micotoxicosis/82-Ochatoxina.pdf

Portal Braford. (2018). *Proceso De Alimentación De La Vaca Y 4 Tipos De Alimentos*.

<https://portalbraford.com/proceso-alimentacion-la-vaca-4-tipos-alimentos/>

San Miguel, J., Perón, N., Suárez, A., & Peralta, E. (2018). La importancia de la alimentación en el ganado vacuno. Blog con sentido vacuno.

<https://www.blog.consentidovacuno.es/posts/la-importancia-de-la-alimentacion-en-el-ganado-vacuno.aspx>

Ukuku, D. (2004). Effect of hydrogen peroxide treatment on microbial quality and appearance of whole and fresh-cut melons contaminated with *Salmonella* spp. *International Journal of Food Microbiology*, 95 (2), 137-146.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.01.021>

Universidad Nacional de Formosa. (2017). TP-8 Micología [PDF]. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNP.

<https://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/microambiental/wp-content/uploads/2016/08/TP-8-Micología.pdf>

Vargas, E., Moreano, N., Cárdenas, J., & Montoya, S. (2023). Presencia de micotoxinas y sus metabolitos, efecto del consumo en cereales. *Reciena*, 4 (1), 87-97.

<https://reciena.esPOCH.edu.ec/index.php/reciena/article/view/101>



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

- Vieira, I., Barreto, L., & Costa de Lima, K. (2005). Eficacia de la solución de hidróxido de calcio a 20% en la reducción de microorganismos asociados a la carie de dentina. *Acta Odontológica Venezolana*, 43 (3).
https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652005000300006&lng=es
- Villarreal, E., & Vega, A. (2019). Normas sobre el control de la presencia de micotoxinas en la leche producida en Panamá. *Revista Plus Economía*, 7 (1), 55-64.
<https://revistas.unachi.ac.pa/index.php/pluseconomia/article/view/288>
- Watanabe, T. (2018). Pictorial Atlas of Soilborne Fungal Plant Pathogens and Diseases. Ediciones CRC Press.
- Wilcoxon, F. (1945). Individual comparisons by ranking methods. *Biometrics Bulletin*, 1(6), 80-83. <https://www.jstor.org/stable/3001968?origin=crossref>
- Wu, F., Doyle, M., Beuchat, L., Wells, J., Mintz, E., & Swaminathan, B. (2000). Fate of *Shigella sonnei* on parsley and methods of disinfection. *Journal of food protection*, 63(5), 568–572. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-63.5.568>



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)