

Resumen y Recomendaciones del Taller Internacional sobre Contaminación por Aflatoxinas en Cacahuete

6-9 Oct 1987

ICRISAT Center, India



International Centre for Research in the Semi-Arid Tropics

Resumen y Recomendaciones del Taller Internacional sobre Contaminación por Aflatoxinas en Cacahuete

**6-9 Oct 1987
ICRISAT Center, India**



ICRISAT

**International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics
Patancheru, A.P. 502 324, India**

Cita : ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics), 1988. Resumen y recomendaciones del Taller Internacional sobre la Contaminación con Aflatoxinas del Cacahuete, celebrado del 6 al 9 octubre de 1987, Centro ICRISAT, India, Patancheru, A.P. 502 324, India: ICRISAT.

El Instituto Internacional de Investigaciones sobre Cultivos en los Trópicos Semiáridos es una organización internacional sin fines de lucro, que está dedicada a la investigación científica y al adiestramiento; recibe apoyo de donadores a través del Grupo Consultivo sobre Investigaciones Agrícolas Internacionales. Los donadores al ICRISAT incluyen los gobiernos y dependencia oficiales de Australia, Bélgica, Canadá, Estados Unidos de América, Finlandia, Francia, India, Italia, Japón, Noruega, los Países Bajos, Reino Unido, República Federal de Alemania, Suecia, Suiza, y las siguientes organizaciones internacionales y privadas: el Banco Asiático para el Desarrollo, Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ), el Fondo Internacional para el Desarrollo Agrícola, la Comunidad Económica Europea, el Fondo de la OPEP para el Desarrollo Internacional, el Banco Mundial y el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. La información y conclusiones que aparecen en esta publicación no reflejan necesariamente el punto de vista de los gobiernos, dependencias oficiales y organismos internacionales y privados antes citados.

Las opiniones contenidas en esta publicación son exclusivamente las de los respectivos autores y no necesariamente reflejan el punto de vista del ICRISAT. Las designaciones empleadas y la presentación del material en esta publicación no expresan opinión alguna, de parte del ICRISAT, respecto al estatus legal de cualquier país, territorio, ciudad o área, o de sus autoridades, o respecto a la delimitación de sus fronteras o límites. La cita de marcas comerciales de productos no constituye una recomendación de los mismos, ni una discriminación contra otros productos similares de parte del ICRISAT.

ISBN 92-9066-163-1

Índice

Introducción

Una revisión general del problema de la contaminación con aflatoxinas en el cacahuete	1
Objetivos y estructura del taller	6

Resúmenes de las ponencias presentadas

Importancia de las aflatoxinas	7
Las aflatoxinas y el comercio del cacahuete	8
Las aflatoxinas en el cacahuete: Vigilancia continua y acciones a nivel nacional	10
La eliminación de aflatoxinas	17
Métodos para el análisis de aflatoxinas	19
Investigaciones generales de la contaminación con aflatoxinas en el cacahuete	22
Investigaciones sobre la contaminación con aflatoxinas del cacahuete: resistencia genética	30

Informes de los grupos de trabajo

I. Evaluación y vigilancia continua de la contaminación con aflatoxinas del cacahuete y sus derivados	36
II. Métodos para analizar las aflatoxinas en el cacahuete y sus derivados	39
III. Investigaciones sobre el control de la contaminación con aflatoxinas en los predios rurales	41
IV. Investigaciones sobre el control de la contaminación con aflatoxinas en el almacenamiento, transporte, procesado, etc.	44

Recomendaciones

Información y capacitación	46
Estrategias	46
Investigación requerida	47

Introducción

Una revisión general del problema de la contaminación con aflatoxinas en el cacahuete

L.D. Swindale

Director General, ICRISAT (Instituto Internacional de Investigaciones sobre Cultivos en los Trópicos Semiáridos)

El cacahuete (*Arachis hypogaea* L.) es la oleaginosa más importante de los países en desarrollo, y una fuente valiosa de proteínas para la nutrición humana y animal. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y de la Alimentación (FAO), en el año de 1985 se cultivaron casi 19 millones de hectáreas con cacahuete en todo el mundo, y se cosecharon 21 millones de toneladas de vainas secas, o sea un poco más de una tonelada por hectárea. Alrededor del 80% de la producción mundial procede de los países en desarrollo, y aproximadamente 67% de los trópicos semiáridos, que correspondan al área donde trabaja el ICRISAT. Nos ha encomendado el Grupo Consultivo sobre Investigaciones Agrícolas Internacionales (CGIAR) efectuar investigaciones sobre el cacahuete especialmente enfocadas hacia los productores en pequeños predios, dado que dentro de los trópicos semiáridos éstos son realmente los principales productores del cultivo. Las investigaciones sobre cacahuete se iniciaron en el ICRISAT en 1976, y se hizo mención específica en el informe que precedió a la iniciación de este programa, que sería necesario enfrentarse al problema de la contaminación con aflatoxinas.

El problema fue identificado por primera vez, después de ocurrir los brotes iniciales de la enfermedad "X" de los pavos en el Reino Unido, en el año de 1960. El factor común observado en dichos brotes estribaba en que la dieta de los pavos afectados contenía torta de cacahuete procedente de Brasil. Las investigaciones realizadas en el Reino Unido revelaron que la enfermedad era causada por toxinas producidas por cepas del hongo *Aspergillus flavus*, cuando se desarrollaban en la torta citada, y por tanto estas toxinas se denominaron aflatoxinas.

El Tropical Products Institute (TPI), Londres, que ahora forma parte del Overseas Development Natural Resources Institute (ODNRI) y el Central Veterinary Laboratory, en Weybridge, RU, desempeñaron papeles prominentes en la extracción, purificación e identificación de las toxinas, y en el desarrollo de métodos biológicos y fisicoquímicos para la identificación y cuantificación de toxinas en cacahuete y otros productos comerciales. Esto estableció las bases para que en las investigaciones rápidamente crecientes a escala mundial, se pudiera identificar qué productos comerciales, además de los cacahuates, podrían estar contaminados con aflatoxinas, y cuáles especies de animales, además de las aves, eran susceptibles a la aflatoxicosis. Se encontró que varias semillas oleaginosas importantes, cereales, leguminosas y cultivos de especias, estaban contaminados con aflatoxinas en forma natural, y un gran

número de especies de ganado eran afectados por las aflatoxinas, en mayor o menor grado. Entre los cuatro cultivos que el ICRISAT tiene el compromiso de investigar, solamente el sorgo tiene posibilidades de llegar a contaminarse con aflatoxinas, mientras que entre los cereales, la contaminación más importante por varios órdenes de magnitud, ocurre en maíz. El maíz y los cacahuates son productos comunes en la dieta de muchos pueblos en los trópicos e ingredientes usuales en los alimentos del ganado, en los países desarrollados. La más común de las aflatoxinas, la aflatoxina B₁, es también la más tóxica.

A medida que se acumulaban las pruebas sobre la importancia actual y potencial de las aflatoxinas en los animales de granja, se acrecentaron las inquietudes acerca de su posible peligro para la salud humana. Estas se intensificaron marcadamente cuando se demostró que ratas alimentadas con torta de cacahuete, contaminada con aflatoxinas, eran afectadas por cáncer del hígado. Durante los últimos 25 años se han reunido abundantes datos sobre la presencia de aflatoxinas en las dietas de determinadas regiones del mundo, en relación con la incidencia de cáncer del hígado en estas regiones, y existen fuertes indicios que están interrelacionadas.

La posible presencia de sustancias tan extremadamente tóxicas y carcinogénicas en los alimentos de consumo humano y en el alimento animal, ha tenido un efecto profundo en la utilización y el comercio del cacahuete y los productos derivados de cacahuete. Los países procesadores e importadores han puesto límites máximos de niveles de aflatoxinas permisibles en los cacahuates y productos derivados de éstos. En una ponencia presentada en la reciente conferencia internacional FAO/OMS/UNEP sobre micotoxinas, van Egmond informó que alrededor de 50 países han estatuido o propuesto legislación reglamentando el contenido de aflatoxinas en los alimentos. Los límites máximos tolerables varían desde no detectables hasta 50 µgkg⁻¹. Ha habido la tendencia de que la reglamentación sea cada vez más restrictiva, conforme han mejorado los métodos de detección. Naturalmente sería preferible que no hubiera aflatoxinas presentes, pero esto no ha resultado factible. No sólo los cacahuates para consumo humano directo están sujetos a las restricciones. Cuando los mamíferos ingieren aflatoxina B₁, esta toxina puede pasar a la leche en donde ocurre en una forma ligeramente modificada llamada aflatoxina M₁. En agosto de 1981, el Ministerio de Agricultura del Reino Unido proscribió la alimentación de vacas lecheras con productos derivados de cacahuates, debido al posible peligro a la salud de los consumidores de leche. Se cree que la toxina en la leche es particularmente importante, debido a que los animales lactantes y presuntamente también los niños, son más susceptibles a la aflatoxicosis y a los efectos carcinogénicos de las aflatoxinas que los adultos.

Los peligros para la salud humana y de la ganadería, por ingestión de alimentos contaminados con aflatoxinas, son mucho mayores en los países en vías de desarrollo, que en los desarrollados. La mayoría de los primeros están situados dentro del trópico, donde las temperaturas y humedades relativas frecuentemente favorecen el crecimiento de los hongos en los productos citados. También las condiciones de almacenamiento frecuentemente dejan mucho que desear. En muchos países solamente hay facilidades limitadas o no existen éstas, para la vigilancia continua contra esta contaminación en los cacahuates o sus derivados. También existen posibles interacciones sinérgicas entre las aflatoxinas y el virus B de la hepatitis infecciosa, y hay evidencia

de que los efectos de la ingestión de aflatoxinas son mucho más severos en el caso de niños que padecen de una grave malnutrición proteica, condición desafortunadamente común, en algunos de los países donde ocurren las aflatoxinas. Donde los cacahuates son un cultivo de exportación que produce ingresos monetarios a los productores, ha habido la tendencia de concentrar los esfuerzos en asegurar la aceptabilidad del producto comercial en el país importador, mientras que poca atención se ha puesto en los niveles de aflatoxinas en los productos asignados al consumo local. Por supuesto, se reconoce que la pérdida de ingresos procedentes de la exportación puede ser de gran importancia, y también se aprecia que es difícil en algunos países productores de cacahuete, satisfacer las estrictas reglamentaciones actualmente impuestas por los países importadores. Sin embargo, los problemas locales son importantes. ¿Qué puede hacerse para eliminar o reducir las contaminaciones con aflatoxinas en los cacahuates y sus derivados? Actualmente no hay una práctica única que puede prevenir la contaminación con aflatoxina de los productos comerciales. Por supuesto, si pudieramos obtener genéticamente variedades de cacahuete sobre las cuales el hongo toxigénico *A. flavus* no pudiera desarrollarse, o sobre las cuales aun cuando se desarrollara no produjera toxinas, entonces estaría resuelto el problema. Desafortunadamente no hemos hecho eso aún. Lo que puede hacerse al nivel de predio rural, es sembrar variedades que tienen el grado más alto posible de resistencia a las invasiones de las vainas y semillas por *A. flavus* y también aplicarse prácticas de cultivo que reducen a un mínimo las lesiones a las vainas. Deben evitarse condiciones adversas de sequía durante la última parte del ciclo de desarrollo de cultivo, y éste debe cosecharse cuando la mayoría de las vainas se encuentren maduras. El secado de post-cosecha debe ser rápido, pero no tanto que produzca daños a la semilla, y el almacenamiento deberá ser bajo condiciones limpias, secas y libre de plagas. Las cosechas deben vigilarse continuamente contra la contaminación con aflatoxinas, al salir de los predios rurales o al arribar en los centros de acopio o plantas procesadoras, y aquellos lotes de materiales con niveles de aflatoxinas mayores que los permisibles, deberán separarse para uso no-alimentario, o someterse a algún proceso que elimine las toxinas, antes de usarse como alimento humano o animal. El aceite refinado obtenido de los cacahuates procesados en las plantas modernas de extracción con solventes está libre de aflatoxinas; pero el aceite producido en las plantas extractoras de aceite por presión, que son las más primitivas y de uso frecuente en los pueblos pequeños, puede contener altos niveles de aflatoxinas y requerir un tratamiento adicional para que sea apta para el consumo humano. Cuando el producto derivado de los cacahuates llega a manos del consumidor, el riesgo de contaminación con aflatoxinas aún persiste. Las esporas de *A. flavus* generalmente están presentes en el aire y el agua de las regiones con climas tropicales o cálido-templados, de manera que los alimentos expuestos pueden llegar a ser inoculados y producir aflatoxinas, si las condiciones ambientales y la composición de los alimentos en cuestión son favorables.

Es obvio que los esfuerzos para evitar la contaminación de los cacahuates con aflatoxinas deben iniciarse durante el desarrollo del cultivo y continuarse hasta que la cosecha sea consumida. Aun cuando muchas prácticas recomendadas para evitar la contaminación son sencillas y fáciles de aplicar, éstas deben adaptarse a las condi-

ones agroecológicas específicas y algunas no pueden aplicarse en los países menos desarrollados, donde las facilidades necesarias son mínimas o inexistentes. Muchos grupos diferentes de productores tendrán que participar y trabajar juntos para resolver el problema común.

Este taller ha reunido a los investigadores agrícolas y extensionistas procedentes de 26 países en vías de desarrollo y desarrollados, y de varias instituciones internacionales y regionales. Han asistido representantes invitados de unidades comerciales, de procesamiento, e intereses comerciales gubernamentales, así como representantes de los sectores médicos y veterinarios, para lograr una cobertura comprensiva del problema. Los principales objetivos del taller son: lograr una evaluación actualizada del problema y desglosar las investigaciones recientes, así como las investigaciones actualmente en marcha, con el propósito de proporcionar los mejores consejos posibles a todas las personas interesadas en la producción de cacahuates, sobre cómo reducir o eliminar las contaminaciones con aflatoxinas.

El enfoque de las acciones del ICRISAT en las investigaciones sobre aflatoxinas se concentra sobre el desarrollo de cacahuates resistentes a la invasión de *A. flavus*, o que impiden el desarrollo de las toxinas. Estudios colaterales se realizan para desarrollar métodos *in vitro*, para detectar la resistencia de la semilla, la detección de las toxinas, y la evaluación de los factores ambientales que afectan la resistencia del cultivo. Esto pudiera parecer un enfoque un tanto restringido al problema, pero el ICRISAT es un instituto internacional de investigación y capacitación agrícola, que realiza la mayoría de sus investigaciones sobre cacahuete dentro de tres países anfitriones: India, Níger y Malawi. Además, trabaja en beneficio de los pequeños agricultores de todas las regiones del trópico donde se siembran cacahuates. No se considera conveniente que el ICRISAT emprenda investigaciones amplias sobre problemas de aflatoxinas en el período post-cosecha, dado que esto claramente es responsabilidad de las instituciones científicas nacionales, y no sería apropiado que el ICRISAT emprendiera estos trabajos, si existe la capacidad nacional para la resolución de problemas de esta índole. Sin embargo, es necesario recordar que el importante grupo de pequeños agricultores carece, en su mayor parte, de la educación, la información, y los medios necesarios para mantener bajos los niveles de aflatoxinas si es necesario el uso de prácticas sofisticadas de manejo en cultivos. Hacemos aquello que consideramos prioritario, y creemos que nuestras investigaciones sobre *A. flavus* y sus toxinas permitirán a los pequeños agricultores en los trópicos derivar mayores ingresos de la producción de cacahuates. Nuestro trabajo, sin embargo, es solamente una pequeña contribución a la solución de un problema mayor.

Se espera que este taller y las memorias derivadas del mismo, ayudarán en la presentación del progreso logrado en todos los frentes, en la lucha contra el serio problema de la contaminación con aflatoxinas en los cacahuates, y mostrarán como cada uno de los diversos logros de las investigaciones contribuyen a alcanzar un objetivo general de mucho mayor magnitud.

También se espera que mediante la amplia distribución tanto del resumen como las memorias completas de este taller, podremos poner el problema ante la atención de las autoridades gubernamentales y los formuladores de políticas apropiados, a fin de que puedan tomar las acciones necesarias para minimizar los riesgos para la salud,

tanto de humanos como para la ganadería, derivados del consumo de cacahuates o productos derivados, contaminados con aflatoxinas, así como mejorar la calidad de los cacahuates que entran al comercio y consecuentemente incrementar los ingresos por concepto de exportación de los mismos.

Objetivos y estructura del taller

Objetivos:

Los principales objetivos del taller fueron:

- Reunir a investigadores y otras personas interesados en los múltiples y diversos aspectos del problema de aflatoxinas en el cacahuete, para intercambiar la información más reciente.
- Evaluar el estado de las investigaciones sobre aflatoxinas en diferentes países y regiones.
- Identificar áreas de investigaciones conjuntas.
- Discutir maneras de evaluar y manejar el problema de la contaminación con aflatoxinas en los cacahuates, en todos los países del mundo.
- Identificar las necesidades específicas de capacitación y las organizaciones que puedan ofrecer capacitación.
- Desarrollar planes para la disseminación de información útil para los productores de cacahuates, procesadores, usuarios, servicios de asistencia técnica y los formuladores de políticas apropiadas.

Estructura

Para cubrir el amplio rango de temas y disciplinas representadas en el taller, las ponencias se agruparon en sesiones de trabajo, que se ordenaron para su desarrollo, desde el aspecto general del problema a los temas de investigación específica. Los resúmenes de todas las ponencias presentadas se incluyen en estas memorias. Con la presentación de más de 40 ponencias, las discusiones al final de cada una de éstas fueron inevitablemente breves, pero el programa desarrollado permitió a los participantes separarse en grupos y efectuar discusiones más profundas dentro de los mismos. En la sesión plenaria final, cada presidente de grupo presentó su informe y recomendaciones, que se incluyen en estas memorias. Las recomendaciones de cada grupo fueron analizadas durante la sesión plenaria por todos los participantes, y en base a las deliberaciones respectivas, se formularon las recomendaciones finales del taller. Una recomendación importante del taller, y tema que se reiteró a través de las intervenciones y discusiones, es la necesidad de sensibilizar a la gente acerca del problema de contaminación con aflatoxinas, a todos los niveles, desde el público general y los agricultores, hasta los formuladores de políticas de producción de alimentos y representantes del comercio y la industria. Las memorias, que incluirán los textos completos de las ponencias presentadas, se encuentran en proceso de elaboración y estarán disponibles en el ICRISAT, más adelante en 1988. En este documento el término cacahuete se utiliza para designar a *Arachis hypogea* L. Con la finalidad de lograr uniformidad, todos los contenidos de aflatoxinas se expresan en microgramos por gramo ($\mu\text{g g}^{-1}$) o microgramos por kilogramo ($\mu\text{g kg}^{-1}$).

Resúmenes de las ponencias presentadas

Importancia de las aflatoxinas

Peligro para la salud humana asociado con el consumo de cacahuete contaminado con aflatoxinas

R.V. Bhat

Assistant Director, Food and Drug Toxicology Research Centre, National Institute of Nutrition, Indian Council of Medical Research, Jamai Osmania PO, Hyderabad 500 007, Andhra Pradesh, India.

Los efectos agudos y crónicos de las aflatoxinas sobre el hombre están bien documentados. Los brotes reportados de aflatoxicosis en el hombre fueron atribuidos al consumo de alimentos básicos, tales como el maíz, y no al consumo de cacahuates. Pruebas circunstanciales han implicado a la torta de cacahuete que contiene aflatoxinas, como causa de la cirrosis infantil en la India. La absorción dietética de aflatoxinas a través de cacahuates ha sido implicada en el desarrollo del cáncer del hígado, en ciertas partes del mundo en desarrollo. La incidencia de cáncer del hígado asociado con la ingestión de aflatoxinas presentes en cacahuates es baja en países desarrollados, como Estados Unidos de América.

Los estudios de consumo de alimentos en la India han indicado que el consumo de nueces de diferentes clases (predominantemente cacahuates) varía de 2 a 35 g por unidad de consumo, por persona, por día, dependiendo de la región y la estación del año. Los datos del Programa Multicéntrico para la Vigilancia de la Contaminación Alimentaria de la India han indicado que aun cuando se pudo detectar aflatoxinas en el 3% de las muestras de cacahuete analizados, las toxinas excedieron el límite oficial permisible de $30 \mu\text{g kg}^{-1}$ en solamente 2.6% de las muestras. Estudios efectuados en Tailandia, Filipinas y Estados Unidos han indicado que la absorción dietética de las aflatoxinas contenidas en cacahuates es menor que la absorción de aflatoxinas contenidas en el maíz.

Las disposiciones legales que reglamentan el contenido máximo de aflatoxinas, adoptadas por la Comunidad Económica Europea (CEE), Japón y otros países desarrollados, en relación con la importación de cacahuates y productos derivados, han logrado como resultado la protección de los consumidores de las exportaciones, más bien que la reducción de los peligros a la salud en los países en desarrollo.

Peligro para el ganado originado por el consumo de torta de cacahuete contaminado con aflatoxinas en Africa

J.D. Reed y O.B. Kasali

Animal Nutritionist, and Head, Animal Reproduction and Health Unit, International Livestock Centre for Africa (ILCA), PO Box 5689, Addis Ababa, Ethiopia.

La aparición de la enfermedad "X" de los pavos en Inglaterra condujo al descubrimiento de la aflatoxicosis, causada por la alimentación del ganado con torta molida de cacahuete contaminada por *Aspergillus flavus*. El alto contenido de aflatoxinas en la torta molida de cacahuete en los países africanos tiene serias consecuencias en la alimentación del ganado. Los riesgos dependen del nivel y tipo de aflatoxinas presentes en la dieta, el tipo de animal y su estado nutricional. La aflatoxicosis subclínica se caracteriza por un reducido consumo de alimentos y una baja productividad en los animales, pero a veces no está asociada con síntomas clínicos claros. Problemas crónicos ocurren cuando las aflatoxinas presentes en la dieta son menores que $1,000 \mu\text{g kg}^{-1}$, pero los límites inferiores para efectos sobre la productividad no han sido definidos.

Las principales lesiones de la aflatoxicosis ocurren en el hígado y pueden clasificarse como hepatitis tóxica. Los casos típicos generalmente son el resultado de la ingestión repetida de las toxinas. Una de las respuestas más constantes a la aflatoxina B₁ es la hiperplasia del ducto biliar en la periferia de los lóbulos hepáticos. Los cambios en los hepatocitos (vacuolización y cambios en la grasa) que llevan a la necrosis, están localizados en alguna parte del lóbulo hepático, dependiendo de la especie animal. Las lesiones hepáticas veno-oclusivas, también son comunes.

El efecto inmunosupresivo de las aflatoxinas, conjuntamente con altas exposiciones a las enfermedades y regímenes alimenticios deficientes, perjudican el mejoramiento de la producción ganadera en Africa.

Las aflatoxinas y el comercio del cacahuete

El comercio del cacahuete en la India y con el mundo: Repercusiones de la contaminación con aflatoxinas

G. Chandrashekhar

Secretary, Indian Oil and Produce Exporters Association, 78-79 Bajaj Bhawan, Nariman Point, Bombay 400 021, India.

Aunque la India es el mayor productor del cacahuete, su participación en el comercio mundial de cacahuete comestible ha declinado marcadamente en los últimos 10 años.

El déficit persistente en la producción de oleaginosas ha originado los altos precios de los cacahuates en la India, en comparación con otros países productores, y ha hecho que los cacahuates de la India sean menos atractivos para el comercio mundial. Los temores a la contaminación con aflatoxinas en los cacahuates han hecho mucho menos daño al comercio de cacahuates de la India que las políticas gubernamentales vacilantes. En la India, la selección de los cacahuates comestibles aún se realiza en forma manual, debido al alto costo de la selección mecanizada y el riesgo de las inversiones en este rubro. Sin embargo, los clasificadores hindúes pueden seleccionar cacahuates de calidad aceptable internacionalmente. En el escenario actual, el impacto de la incidencia de aflatoxinas en los cacahuates cuando mucho es marginal dentro de la India. El apoyo gubernamental para asegurar mayores exportaciones de cacahuates comestibles de la India a precios competitivos obligatoriamente producirá una mayor sensibilización y motivación entre los clasificadores, para que se seleccionen cacahuates de alta calidad, libres de aflatoxinas, para el mercado mundial.

El problema de la contaminación con aflatoxinas del cacahuete y sus derivados, visto por el Consejo Africano del Cacahuete

B. Coulibaly

Deputy Director, Scientific and Technological Department-AGC, African Groundnut Council, Trade Fair Complex, Badagry Expressway Km 15, PO. Box 3025, Lagos, Nigeria.

En los estados miembros del Consejo Africano del Cacahuete (AGC), el cacahuete es un cultivo tradicional y económicamente importante. Durante los últimos 25 años, el problema de las aflatoxinas ha preocupado seriamente a la industria cacahuterera y al AGC. Los problemas económicos y comerciales resultantes han empeorado cada año. Las aflatoxinas son un serio impedimento para las exportaciones, especialmente de la torta y la torta molida de cacahuete destinadas a los mercados tradicionales de Europa. La naturaleza del problema de las aflatoxinas es inconvertible, pero su solución incluye tanto aspectos comerciales y políticos, como de investigación científica.

En base a la información científica disponible sobre *Aspergillus flavus* y otros hongos que producen micotoxinas, y a pesar de las controversias existentes, el AGC inició un programa de control de las aflatoxinas en 1975. Las fases I y II del mismo se han completado con el apoyo financiero de la Comunidad Económica Europea (CEE) y el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), y con el apoyo técnico de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).

Se han logrado los siguientes resultados: (1) se ha capacitado personal para el muestreo, estudio y vigilancia continua de las aflatoxinas, en los campos y laboratorios; (2) se han establecido y equipado laboratorios para el análisis de aflatoxinas; (3) se han identificado medidas de control; y (4) se han construido dos plantas experimen-

tales para eliminar toxinas de productos alimenticios, como complemento de las medidas basadas en el manejo de los cultivos.

El AGC mantiene en forma continua contacto con los representantes de la CEE y los exportadores de productos derivados de cacahuates, en relación con medidas legislativas relevantes y sobre el estándar de calidad y su aplicación.

Una solución científica no es suficiente en sí; solamente puede ser ejecutada eficazmente mediante los esfuerzos conjuntos, la buena voluntad y las iniciativas de los comerciantes, los industriales y los políticos preocupados por este problema.

Las aflatoxinas en el cacahuete: Vigilancia continua y acciones a nivel nacional

La contaminación con aflatoxinas en el cacahuete almacenado en Zimbabwe

A.H. Siwela y A.D. Caley

Research Officer, Chemistry and Soil Research Institute, Department of Research and Special Services, Ministry of Lands, Agriculture, and Rural Resettlement, PO Box 8100, Causeway, Harare, Zimbabwe, and Research Manager, Grain Marketing Board (Zimbabwe), PO Box 8014, Causeway, Harare, Zimbabwe.

Se cuantificaron aflatoxinas en cacahuates almacenados para ventas locales o de exportación, durante el período 1982/83 a 1986/87. Se recolectaron 441 muestras de siete variedades de cacahuete, para su análisis. Sesenta y ocho por ciento de las muestras tuvieron concentraciones de aflatoxina B₁ y G₁ hasta 25 µg kg⁻¹. En 1986/87, las variedades Flamingo y Makulu Red, que constituían la mayor parte de las ventas de exportación, tuvieron un contenido hasta de 25 g kg⁻¹ de aflatoxina B₁ en 83% de las muestras, y además aflatoxina G₁ en 61% de las muestras. En general, la variedad Egret fue la más susceptible a las contaminaciones con aflatoxinas durante este período.

Problemas de contaminación con aflatoxinas y *Aspergillus flavus* en el cacahuate en Zambia

J. Kannaiyan, R.S. Sandhu y A.L. Phiri

Grain Legume Pathologist, Eastern Province Agricultural Development Project, and Groundnut Breeder, FAO/ Government of Zambia, Department of Agriculture, Research Branch, Msekera Regional Research Station, PO Box 510089, Chipata, Zambia, and Senior Laboratory Technician, Eastern Cooperative Union Limited, PO Box 510108, Chipata, Zambia.

En Zambia, los granos de cacahuate asignados a la exportación, son analizados regularmente para determinar su contenido de aflatoxinas. Desde 1979, el 6.3% de 28,410 muestras analizadas tenían niveles de contaminación de más de 5 g kg⁻¹ de aflatoxina. Un estudio de dos años con variedades prometedoras reveló la gran variabilidad existente en el grado de infección de la semilla con *Aspergillus flavus*. El tratamiento de la semilla con Benlate o Labilite, a razón de 3 g kg⁻¹ de semilla, fue eficaz en el control de *A. flavus* presente en la semilla de cacahuate y puede mejorar el establecimiento del cultivo.

La contaminación del cacahuate con aflatoxinas: Estrategias para combatirla en Malawi

C.T. Kisyombe

Senior Groundnut Pathologist, Ministry of Agriculture and Natural Resources, Chitedze Agricultural Research Station, PO Box 158, Lilongwe, Malawi.

En Malawi, las lluvias empiezan en octubre y terminan en abril, de manera que los cultivares de cacahuate de largo ciclo vegetativo se cosechan bajo condiciones de estiaje. Estas condiciones favorecen el rápido secado en el período postcosecha de las vainas, limitándose consecuentemente la oportunidad de invasión de las semillas por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* y su posible contaminación con aflatoxinas. La contaminación con aflatoxinas de los cacahuates no es problema en este país. Sin embargo, algunas de las prácticas seguidas por los agricultores en pequeños predios, en el procesado de los cacahuates previo a su venta, crean condiciones que favorecen el rápido desarrollo de *A. flavus* y *A. parasiticus* y su posible contaminación con aflatoxinas. Estas prácticas incluyen el humedecimiento de las vainas de los cacahuates, para ablandar las cáscaras y facilitar la remoción de las mismas en forma manual. La Empresa de Desarrollo y Comercialización Agrícolas (Agricultural Development and Marketing Corporation, ADMARC) compra cacahuates descascarados y clasificados por los agricultores de pequeños predios, para a continuación reclasificar los mismos electrónicamente y efectuar análisis de su contenido de aflatoxinas, en la planta cacahuatera de Liwonde. El proceso de descascarar y clasificar los cacahuates

en forma manual por parte de los agricultores de pequeños predios, seguido por la reclasificación y análisis de su contenido de aflatoxinas, ha ganado para Malawi una buena reputación como una fuente de cacahuates de alta calidad, en la industria de fabricación de dulces. Se necesita realizar investigaciones para incorporar resistencia genética a *A. flavus* y *A. parasiticus*, y a la contaminación con aflatoxinas, en los cultivares ya comercialmente establecidos, simultáneamente con la educación de los agricultores sobre métodos adecuados de manejo durante el procesamiento de los cacahuates, previo a su envío al mercado.

La situación actual y control de aflatoxinas en el cacahuate en Nigeria

S.K. Manzo y S.M. Misari

Head, Department of Crop Protection, and Leader, Legumes and Oilseeds Research Programme, Institute for Agricultural Research, Ahmadu Bello University. PMB 1044, Samaru, Zaria, Nigeria.

En 1961 se constituyó un comité para coordinar las acciones sobre el problema de las aflatoxinas en Nigeria, con representantes de cuatro ministerios, el Instituto de Investigaciones Agrícolas (IAR), el Instituto Nigeriano de Investigación sobre los Productos Almacenados (NSPRI) y el Consejo de Comercialización del Norte de Nigeria. A este comité se le asignó la responsabilidad de evaluar la magnitud del problema de las aflatoxinas en cacahuates en el país, y de iniciar y coordinar acciones conducentes a su eliminación. El IAR debía investigar la contaminación con aflatoxinas de la cosecha de cacahuates hasta el momento en que el producto era vendido por los agricultores, mientras que el NSPRI debía estudiar el problema desde el momento de iniciarse el almacenamiento hasta que el producto se exportara o se consumiera. El NSPRI, por lo tanto, vigilaba de una manera continua las estibas de almacenamiento, para determinar los niveles de aflatoxinas antes de la exportación del producto. Mientras tanto, el IAR investigaba la velocidad de invasión de los granos de cacahuate por *Aspergillus flavus* y cuándo ocurría esto, así como bajo qué condiciones se producían las aflatoxinas. Se encontró que las interacciones entre temperatura, humedad relativa, sequía, situaciones de precipitación errática y la madurez del cultivo en el momento de la cosecha, afectan la intensidad de la invasión de la semilla por *A. flavus* y la contaminación con aflatoxinas tanto en el campo, como en los almacenes. En las partes más húmedas de la sabana en el sur de Guinea, que tiene temporadas lluviosas prolongadas, la contaminación con aflatoxinas en los cacahuates es principalmente un problema después de la cosecha, mientras que en las principales áreas productoras que están situadas en las regiones más secas del norte de Guinea y la sabana sudanense, el problema generalmente es más agudo antes de la cosecha. Las infestaciones con insectos y el humedecimiento de los cacahuates almacenados aumentan la contaminación con aflatoxinas.

La información derivada de las investigaciones del IAE y del NSPRI continúan proporcionando las bases para las recomendaciones sobre el manejo de los cacahuates, para minimizar o evitar la contaminación con aflatoxinas. Las compañías fabricantes de aceite vegetal y torta alimenticia para el ganado, regularmente envían muestras de sus cacahuates y otros materiales alimenticios para el ganado, para la determinación de sus contenidos de aflatoxinas, en vista de que existe plena conciencia entre las compañías, personas y gobiernos de Nigeria, de los peligros que constituyen las aflatoxinas para las aves, el ganado y los humanos. Nigeria es uno de los cosignatarios de la resolución del Consejo Africano del Cacahuete, de exportar solamente cacahuates cuyo contenido de aflatoxinas no excede el límite permisible de 200 g kg^{-1} , fijado por la Comunidad Económica Europea (CEE). Ninguno de los cultivares de cacahuete sembrados comercialmente en Nigeria es resistente a las invasiones de *A. flavus* y la contaminación de las semillas con aflatoxinas. Materiales genéticos, tanto de fuentes domésticas como exóticas, se están probando para determinar su resistencia a *A. flavus*, y mientras se utilizan o se investigan otras prácticas mejoradas de manejo del cultivo.

Problemas de aflatoxinas en el cacahuete en Tanzania

M.D. Raya

Crop Protection Specialist, Groundnut Improvement Programme, Tanzania Agricultural Research Organization (TARO), TARO Naliendele. PO Box 509, Mtwara, Tanzania.

Los cacahuates se siembran en casi todas partes de Tanzania, pero la mayor parte del cultivo está sembrado en la región sureste del país. El cultivo es sembrado exclusivamente por agricultores con pequeños predios, principalmente para los mercados locales. Las investigaciones en Tanzania, sobre el cacahuete, se iniciaron en Nachingwea, a fines de la década de 1940. A principios de 1970, con la ayuda de la Dirección del Desarrollo en Ultramar (Overseas Development Administration, ODA) del Reino Unido, se trasladaron las investigaciones sobre el cacahuete a Naliendele, Mtwara, en el sureste de Tanzania. Con excepción de una pequeña cantidad de investigación que se realiza en la Universidad Agrícola Sokoine, en Morogoro, la mayor parte de las investigaciones realizadas sobre el mejoramiento genético del cacahuete, aspectos agronómicos y la protección del cultivo se desarrollan en Naliendele.

Estado actual y perspectivas de las investigaciones sobre las aflatoxinas en Mozambique

E.F. Baquete y M.J. Freire

Veterinario y Analista de Control de Calidad, Laboratorio Nacional para a Higiene de Agua e Alimentos (LNHAA), Caixa Postal 264, Maputo, Mozambique, y Profesor Adjunto Universidade Eduardo Mondlane, Faculdade de Agronomia, Groundnut Improvement Project/IDRC, Caixa Postal 257, Maputo, Mozambique.

En Mozambique, existe una alta correlación entre la incidencia de cáncer primario del hígado y el consumo de alimentos contaminados con aflatoxinas. Se han realizado algunos trabajos para evaluar y minimizar el problema de las aflatoxinas.

Instituciones tales como el Instituto Nacional de Investigación Veterinaria (INIV) y el Laboratorio Nacional para la Higiene de Agua y Alimentos (LNHAA), realizan análisis de productos alimenticios, tanto de consumo animal como humano. La principal técnica empleada para la determinación y cuantificación de las aflatoxinas es la cromatografía de capa delgada (TLC), aún cuando también se dispone de la cromatografía líquida de alto rendimiento, en el LNHAA.

En 1981, se analizaron 17 productos alimenticios, en un total de 313 muestras, y se encontró que 16 muestras estaban contaminadas con aflatoxina B₁, 10 con B₂, 4 con G₁ y 3 con G₂. Se encontró, asimismo, que de 87 a 100% de las muestras de cacahuates, cerveza, arroz y maíz analizadas, estaban contaminadas. Los niveles de contaminación con aflatoxinas en las muestras de cacahuete variaron desde 3 a 5500 g kg⁻¹, siendo el principal contaminante la aflatoxina B₁.

Un programa de análisis investiga la posible correlación entre el consumo de alimentos contaminados y la posible presencia de aflatoxina M₁ en la leche materna humana.

Se estudia la posibilidad de realizar trabajos adicionales, conjuntamente entre el INIV, el LNHAA y el Proyecto de Mejoramiento del Cacahuete de la Universidad Eduardo Mondlane, para incluir un componente agronómico y para la formulación de recomendaciones para los pequeños agricultores y comerciantes.

Investigaciones sobre la contaminación con aflatoxinas del cacahuete en la República Popular China

Xiao Daren

Research Assistant, Institute of Oil Crops, Chinese Academy of Agricultural Science, (CASS), Groundnut Aflatoxin Contamination Project on Oilseeds Research, Baojian, Wuchang Wuhan, Hubei, People's Republic of China.

Durante 1973-77, se analizaron para determinar su grado de contaminación con aflatoxina B₁, 1690 muestras de semillas de cacahuete y 1172 muestras de aceite de

cacahuete, procedentes de 24 provincias de la República Popular China. Los porcentajes de muestras conteniendo la toxina citada fueron 26.3 para las semillas y 47.3 para los aceites. En todo el país, el porcentaje de muestras contaminadas decreció al aumentar la latitud, siendo alto en el sur de China, mediano en el Valle del Yangtze, y bajo en el norte de China. El aspecto clave para evitar la contaminación con aflatoxinas fue el rápido secado de los cacahuates hasta que contuvieran un grado de humedad menor al 10%.

La contaminación con aflatoxinas del cacahuete, después de la cosecha, en Filipinas

R. Quitco, L. Bautista y C. Bautista

Research Associate, Research Assistant, and Chemist, National Post Harvest Institute for Research and Extension (NAP HIRE), c/o Central Luzon State University (CLSU), Muñoz, Nueva Ecija, Philippines.

Los resultados de muestreos hechos en Filipinas han indicado que las concentraciones de aflatoxinas a nivel de los predios rurales aumentan significativamente entre el momento de la cosecha y el almacenamiento en el mismo predio, durante el período de la cosecha principal. Al cosecharse, los cacahuates contenían, en promedio, 3.16 g kg^{-1} de aflatoxinas. Durante el tiempo en que secaban las hileras de plantas con las vainas en el campo, los niveles de aflatoxinas aumentaron a razón de 1.5 g kg^{-1} por día. Durante el almacenamiento en el predio agrícola, la contaminación con aflatoxinas continuó aumentando a razón de 1.4 g kg^{-1} por día. La contaminación con aflatoxinas fue significativamente mayor durante el período de cosecha principal que durante el segundo período de cosecha.

Al nivel comercial, muestras de cacahuates recolectados en varias empresas intermediarias tuvieron contenidos de 35.0 g kg^{-1} de aflatoxinas. Por otro lado, muestras recolectadas de lotes de cacahuete recién recibidos por comerciantes mayoristas, contenían 188 g kg^{-1} de aflatoxinas. Los cacahuates que estuvieron en los almacenes de los comerciantes mayoristas durante más de tres meses contenían 275 g kg^{-1} de aflatoxinas.

Al nivel de los procesadores, las materias primas utilizadas para la elaboración de cacahuates como confites (tostados o fritos), contenían 7.73 g kg^{-1} de aflatoxinas; los cacahuates destinados a la elaboración de mantequilla de cacahuete, 17.13 g kg^{-1} , y los cacahuates desechados, tenían un contenido de 120.6 g kg^{-1} .

La contaminación con aflatoxinas podía iniciarse en el momento de cosecha. El contenido de aflatoxinas se incrementó a un nivel significativamente alto durante el manejo comercial y el procesado de las semillas. Este aumento continuo fue atribuido a que los cacahuates no se secaron lo suficiente después de la cosecha.

La contaminación con aflatoxinas del cacahuete en Pakistán

I.A. Rana

Principal Scientific Officer, National Agricultural Research Centre, Food Technology Department, PO National Institute of Health, National Park Road, Islamabad, Pakistan.

Muestras de cacahuete procedentes de varias partes de Pakistán se analizaron para determinar su contenido de aflatoxinas, y ninguna de las muestras de cacahuete fresco contenía toxinas. Sin embargo, entre el 6 y el 15% de las muestras de cacahuete tostado, procedentes de otras áreas, no del Khuzdar, estaban contaminadas. El contenido de aflatoxinas de las muestras contaminadas varió de 24 a 800 g kg⁻¹; en contraste, todas las muestras de cacahuete tostado analizadas, procedentes de Khuzdar, estaban contaminadas.

El Programa Nacional de Vigilancia y Control de Micotoxinas en Brasil

M. Sabino

Head of Department, Química Biológica, Instituto Adolfo Lutz, Av. Dr. Arnaldo 355, Caixa Postal 7027, São Paulo, SP-CEP 02146, Brazil.

La parte occidental del Estado de São Paulo, que es una región con altas temperaturas y alta humedad, es la principal zona productora de cacahuates en Brasil. El estudio de los resultados obtenidos durante la temporada de lluvias (en 313 muestras) y durante el estiaje (en 83 muestras) dentro de ese estado, indicaron que en promedio de 48 a 74% de las muestras recolectadas en las regiones occidental y del noreste contenían de 5 a 22,500 g kg⁻¹ de aflatoxina B₁.

Este estudio reconfirmó la extensión y la frecuencia con la cual ocurren las aflatoxinas en cacahuates en Brasil, y demostró definitivamente que existe en ese país un problema de micotoxinas. Se hicieron propuestas y recomendaciones al respecto a las autoridades pertinentes, como resultado del estudio.

La eliminación de aflatoxinas

El control de las aflatoxinas en productos derivados del cacahuete, con especial atención al muestreo, análisis y eliminación de las toxinas

R.D. Coker

Principal Scientific Officer, Mycotoxins Section, Overseas Development Natural Resources Institute (ODNRI), 56-62 Grays Inn Road, London WC1X 8LU, UK.

El control de la frecuencia con la cual ocurren las aflatoxinas en los productos derivados de cacahuates requiere de una combinación de procedimientos para controlar la calidad y eliminar las toxinas. Los trabajos recientes del Instituto para el Desarrollo de Recursos Naturales en Ultramar (Overseas Development Natural Resources Institute, ODNRI) se han centrado en el desarrollo de procedimientos de muestreo eficientes, de preparación de las muestras por analizarse, de análisis de aflatoxinas, y la eliminación de las toxinas por medios químicos.

Se ha investigado el uso de modelos matemáticos seleccionados para describir la distribución de las aflatoxinas en los granos de cacahuete, cacahuates tostados, mantequilla de cacahuete y torta de cacahuete, con la finalidad de facilitar el diseño de planes de muestreo estadísticamente fundamentados para el muestreo de estos productos comerciales. Se ha desarrollado un molino submuestreador, en colaboración con una empresa del Reino Unido, que permite la obtención de submuestras representativas finamente molidas, en forma rápida, a partir de muestras grandes de granos de cacahuete.

Se han desarrollado métodos para el análisis preciso del contenido de aflatoxinas en productos derivados del cacahuete, utilizando procedimientos de extracción o "limpieza" por ligamiento de fases en combinación con cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y cromatografía de capa delgada de alto rendimiento (HP-TLC), como métodos de cuantificación. La aplicación de métodos inmunoenzimáticos de cuantificación de anticuerpos (ELISA) en el análisis de la mantequilla de cacahuete, también ha sido detalladamente examinada.

Se ha desarrollado un procedimiento para la eliminación de toxinas de la torta de cacahuete, empleándose amoníaco en forma gaseosa, a altas temperaturas y presiones moderadas, y se han realizado pruebas preliminares de toxicidad, usando material producido en un reactor de 50 kilogramos de capacidad. Se encuentra en construcción un reactor de una capacidad de 1 tonelada por hora y las pruebas respectivas se iniciarán en la India, en 1988.

La eliminación de la contaminación con aflatoxinas del cultivo del cacahuete en Australia

M. Read

Chief Chemist, The Peanut Marketing Board, Haly Street, PO Box 26, Kingaroy, Queensland 4610, Australia.

En Australia el cultivo del cacahuete contiene cantidades significativas de aflatoxinas durante ciertos años, debido a la presencia de condiciones de sequía aguda, justamente antes de la cosecha. Mediante un proceso de clasificación y separación selectiva, se pueden eliminar los granos que contienen altos concentrados de aflatoxinas, de los lotes de semillas contaminadas, logrando así no rebasar el límite máximo autorizado de 15 g kg⁻¹ (total). Esta separación es factible debido a la decoloración característica de los granos de cacahuete, producida por el desarrollo de especies de *Aspergillus*, y el reducido porcentaje de granos que contienen aflatoxinas. Se presentan las contribuciones a la varianza del muestreo, la preparación de las muestras y de análisis. Incluso con normas muy rígidas en el muestreo y el análisis, la incertidumbre en el control de las aflatoxinas es estadísticamente significativa.

La eliminación de la aflatoxina B₁ de la leche de cacahuete por medio de *Flavobacterium aurantiacum*

D.Y.Y. Hao, R.E. Brackett y T.O.M. Nakayama

Graduate Student, Assistant Professor, and Professor, University of Georgia, and Program Director, Peanut Collaborative Research Support Program (Peanut CRSP), University of Georgia, College of Agriculture, Georgia Experiment Station, Griffin, GA 30212, USA.

Se evaluó el potencial que tiene el empleo de *Flavobacterium aurantiacum* para eliminar la aflatoxina B₁ de la leche de cacahuete. Experimentos preliminares establecieron que esta bacteria se desarrollaba bien, tanto en leche de cacahuete no desgrasada (LCND), como en leche de cacahuete parcialmente desgrasada (LCPD). En ninguno de estos casos fue inhibido el desarrollo por la presencia de aflatoxina B₁. Experimentos adicionales se diseñaron para evaluar la capacidad de una concentración de 10⁹ células individuales de *F. aurantiacum*, para la eliminación de aflatoxina B₁, de una solución amortiguada de fosfato (AF), LCND, y LCPD. Después de 24 horas a 30°C., *F. aurantiacum* redujo en 40% el contenido de aflatoxina B₁ en AF; 23% en LCND, y 70% en LCPD. La proteólisis de LCPD antes de la inoculación con *F. aurantiacum* aumentó la recuperación de toxina en alrededor de un 30% sobre el caso de muestras no proteolizadas, lo cual sugiere que parte de la toxina puede estar ligada a las proteínas del cacahuete, y por lo tanto, no disponible para su eliminación por *F. aurantiacum*.

La eliminación de toxinas de la semilla de cacahuete y otros productos en la India

T. Shantha

Scientist, Discipline of Microbiology and Sanitation, Central Food Technological Research Institute (CFTRI), Mysore 570013, Karnataka, India.

La exposición del aceite de cacahuete contaminado con aflatoxina B₁ a la luz solar intensa durante un lapso de tiempo determinado, destruye completamente la toxina. Se ha confirmado que el aceite expuesto a la acción de la luz solar es completamente inocuo y se conserva en buenas condiciones comerciales en forma prolongada. La aflatoxina se encuentra presente en forma de sólidos finamente divididos y suspendidos en el aceite, y la mayor parte de éstos puede ser eliminados por filtración o mediante extracción con una solución de NaCl al 10%. En los granos molidos de cacahuete (en forma de escamas de 0.5 mm de espesor) contaminados con aflatoxinas, es factible eliminar parcialmente las toxinas, mediante su exposición a la acción de la luz solar durante 14 horas. Para eliminar totalmente las aflatoxinas de la torta de cacahuete, se puede utilizar alcohol al 50%, acetona, metanol, o una solución de cloruro de calcio al 1%. El tratamiento de la proteína purificada con agua oxigenada, y de los cacahuates molidos en forma de escamas delgadas o pulverizadas con urea y harina de soya, con o sin formaldehído, puede destruir el 90% de su contenido de aflatoxinas.

Métodos para el análisis de aflatoxinas

Métodos inmunoquímicos comunes para analizar las aflatoxinas en el cacahuete y sus derivados

F.S. Chu

Professor of Food Toxicology, University of Wisconsin, Department of Food Microbiology and Toxicology, 1925 Willow Drive, Madison, WI 53706, USA.

Con el reciente descubrimiento de anticuerpos monoclonales y policlonales específicos para las micotoxinas, se han desarrollado pruebas sencillas, muy sensibles y específicas, tales como las cuantificaciones tipo radioinmunológico (RIA) y el método inmunoenzimático de cuantificación de anticuerpos (ELISA). Las sensibilidades del RIA varían de 0.1 a 0.5 ng y de ELISA de 2.5 a 25 pg por prueba. Se han desarrollado sencillos y rápidos protocolos ELISA, para la cuantificación de aflatoxina B₁ en el cacahuete y sus derivados, que requieren menos de una hora para efectuarse, y que se han probado con éxito en muestras de cacahuete contaminadas bajo condiciones

naturales, a niveles de 5 a 10 g kg⁻¹. Los anticuerpos de las micotoxinas han sido utilizados como un procedimiento, inmunohistoquímico, para la cuantificación de micotoxinas en tejidos y para la preparación de columnas de inmunoafinidad, que posteriormente se utilizaban, ya sea para la determinación de aflatoxinas en cacahuates, o en el proceso de extracción y "lavado" en el análisis de aflatoxinas. Se examinan los avances recientes en la producción de anticuerpos, la especificidad de los anticuerpos, pruebas inmunoquímicas, así como problemas asociados con las investigaciones inmunoquímicas sobre micotoxinas, y de manera especial sobre las aflatoxinas. Se hace hincapié en los métodos inmunoquímicos para cuantificar las aflatoxinas en productos derivados del cacahuete.

Métodos de analizar las aflatoxinas en el cacahuete y otros productos agrícolas

T. Goto y M. Manabe

Senior Research Officer, and Head of Division of Applied Microbiology, Mycotoxins Laboratory, National Food Research Institute, Ministry of Agriculture, Forestry, and Fisheries, 2-1-2 Kannondai, Yatabe, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

Los métodos para analizar las aflatoxinas a base de la cromatografía de capa delgada (TLC) y de detección por fluorescencia, se desarrollaron durante la década de 1960 y aún se utilizan extensamente. A fines de los años 70, se desarrollaron varios procedimientos a base de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y como éstos generalmente son más sensibles que los métodos TLC, actualmente son muy populares para el análisis de aflatoxinas, cuando se requiere un alto grado de exactitud. Para algunos propósitos analíticos, la simplicidad y la rapidez del análisis son más importantes que la exactitud, y teniendo esto presente se desarrolló el método que utiliza la reacción de la fluorescencia amarillo-verdoso brillante (FAVB) y el método de la minicolumna. Más recientemente, se han examinado algunos equipos portátiles para el uso del método de cuantificación tipo radioinmunológico (RIA) y varios métodos inmunoenzimáticos de cuantificación de anticuerpos (ELISA), de análisis de aflatoxinas, y algunos de estos han resultado adecuados para el tipo de pruebas que actualmente se efectúan con los métodos FAVB y de las minicolumnas. La cromatografía en fase gaseosa también puede usarse para el análisis de aflatoxinas bajo ciertas condiciones. Entre el gran número de métodos de análisis de aflatoxinas actualmente disponibles, debe ser factible escoger métodos que sean los más apropiados para un propósito específico.

Determinación de la aflatoxina B₁ en el cacahuete por el método ELISA

V. Anjaiah, V.K. Mehan, S. Jayanthi, y D.V.R. Reddy

Research Associate, Groundnut Pathologist, and Principal Virologist, Legumes Program, ICRISAT.

Se utilizó albúmina de suero bovino-afla B₁-oxime, conocido comercialmente con el nombre de "Hapten", para la producción de un antisuero en conejos. Este mismo "Hapten" fue ligado con fosfatasa alcalina (Hapten-BSA-ALP) y usado en el método directamente competitivo inmunoabsorbente vinculado a enzimas de cuantificación de anticuerpos, ELISA, para la detección de aflatoxina B₁. La aflatoxina B₁ fue extraída con metanol de muestras de semilla de cacahuete contaminadas, ya sea en forma natural o artificialmente, con esa micotoxina.

Las depresiones de una placa de polistireno empleada para microtitulaciones se recubrieron con una capa delgada del antisuero; las placas se lavaron con el producto PBS-Tween; se agregaron soluciones calibradas de aflatoxinas B₁ o extractos de las muestras de cacahuates y, a continuación, el conjugado Hapten-BSA-ALP; luego se incubaron las placas. Se lavaron nuevamente las placas, y la cantidad de conjugado ligado al anticuerpo, se determinó después de la adición del sustrato, P-nitrofenil-fosfato.

El conjugado Hapten-BSA-ALP tiene marcadas ventajas de estabilidad, simplicidad y alta especificidad, sobre el uso del conjugado toxina-enzima convencional, en el método competitivo directo ELISA. El método analítico primeramente citado es más rápido y menos costoso que los métodos físico-químicos de análisis de aflatoxinas y puede detectar niveles de aflatoxina B₁ hasta del orden de 50 picogramos.

Métodos para analizar las aflatoxinas en el cacahuete

D.M. Wilson

Professor, Department of Plant Pathology, University of Georgia, Coastal Plain Experiment Station, Tifton, GA 31793, EUA.

La determinación de aflatoxinas en el cacahuete puede llevarse a cabo de diversas maneras. Los cacahuates frecuentemente están contaminados con las aflatoxinas B₁ y B₂ y menos frecuentemente con la combinación de B₁, B₂, G₁, y G₂, de manera que es importante la obtención de valores analíticos que representan el contenido total de aflatoxinas. Algunos países se interesan por el contenido total de aflatoxinas. Es esencial manejar con las precauciones debidas todos los materiales experimentales asociados con los análisis de aflatoxinas o los hongos aflatoxigénicos.

La selección y depuración, en forma visual, de lotes de cacahuates dudosos, que se basan en la detección de conidióforos y conidios del grupo de hongos *Aspergillus*

flavus, no es tan confiable como una prueba química y puede ocasionar que lotes de semillas contaminadas con aflatoxinas entren en el comercio. Las técnicas de depuración por medio del uso de minicolumna pueden ser útiles, pero siempre deben usarse combinadas con algún método de análisis cuantitativo. Varios métodos analíticos a base de cromatografía de capa delgada (TLC) y de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) son satisfactorios para la cuantificación de aflatoxinas, y se utilizan de manera general. Los métodos inmunoquímicos más recientes, tales como el método inmunoabsorbente vinculado a enzimas de cuantificación de anticuerpos (ELISA) o métodos de columnas de afinidad, se están perfeccionando rápidamente. Los métodos ELISA pueden usarse para fines de depuración, así como para cuantificaciones de aflatoxinas, pero son sensibles al efecto de las temperaturas y solamente deberán usarse cuando se dispone de un control apropiado de este factor. El método de columnas de afinidad es menos afectado por la temperatura, y puede usarse ya sea para fines de depuración de lotes de materiales o de cuantificación de las aflatoxinas. Los métodos químicos e inmunológicos son confiables, si se usan con los cuidados necesarios por personal bien capacitado.

Todos los laboratorios analíticos deben enfatizar la adopción de medidas de seguridad, e incluir procedimientos adecuados para verificar la exactitud de los resultados analíticos obtenidos.

Investigaciones generales de la contaminación con aflatoxinas en el cacahuete

Investigaciones sobre las aflatoxinas en el Programa de Apoyo Conjunto a la Investigación del Cacahuete (CRSP): Una revisión general

T.O.M. Nakayama

Professor, University of Georgia, and Project Director, Peanut Collaborative Research Support Program (CRSP), Georgia Experiment Station, Griffin, GA 30212, EUA.

EL problema de las aflatoxinas se está estudiando en forma integral por el personal del Programa de Apoyo Conjunto a la Investigación del Cacahuete (Peanut Collaborative Research Support Program o "Peanut CRSP"), mediante trabajos sobre: (1) el desarrollo de cultivares resistentes a la invasión de hongos aflatoxígenos; (2) prácticas de manejo del cultivo que reducen los daños por insectos que facilitan las invasiones fungosas; (3) la eliminación de toxinas de los cacahuates contaminados y los productos derivados de los mismos; y, (4) la separación de los cacahuates contaminados. La magnitud del problema parece indicar que una parte considerable de la cosecha deberá seleccionarse y desecharse para lograr la eliminación de las aflatoxinas. Los avances

logrados en cada uno de los rubros mencionados permiten abrigar esperanzas de lograr la obtención de cacahuates para el consumo humano prácticamente libres de aflatoxinas.

Participación del Departamento de Industrias Primarias de Queensland en los trabajos sobre las aflatoxinas en el cacahuete, en Australia e Indonesia

K.J. Middleton

Senior Plant Pathologist, Queensland Department of Primary Industries, J. Bjelke-Petersen Research Station, PO Box 23, Kingaroy, Queensland, 4610, Australia.

La producción de cacahuates bajo condiciones de secano en Queensland, Australia, frecuentemente es contaminada en forma severa con aflatoxinas. El Departamento de Industrias Primarias de Queensland (QDPI), que proporciona servicios de asistencia técnica y de investigación a los productores de cacahuates, se ha dedicado a este problema en diversas formas desde que lo detectó.

Los servicios de asistencia técnica han tratado de sensibilizar a los productores acerca de las causas de la formación de las aflatoxinas en los cacahuates, y sobre las prácticas de manejo del cultivo que pueden usarse para evitar su formación, tanto en los predios rurales, como en las plantas de descascaramiento.

Se ha proporcionado apoyo científico para: auxiliar a la industria cacahuatera en el establecimiento de controles de calidad a nivel industrial; ayudar en la identificación de factores locales que son importantes en la formación de las aflatoxinas; establecer en Australia el Vivero Internacional de *Aspergillus flavus* en Cacahuete y colaborar con la industria, la Organización para la Investigación Científica e Industrial del Commonwealth (CSIRO), así como con el personal de la Universidad Nacional Australiana, en trabajos de investigación sobre aflatoxinas.

El proyecto sobre cacahuates financiado por el Centro Australiano para la Investigación Agrícola Internacional (ACIAR), situado en Indonesia, que se realiza con la colaboración de los científicos del QDPI y de la Agencia para el Desarrollo y la Investigación Agrícolas (AARD), podrá, en el futuro, considerar incluir en sus trabajos investigaciones sobre los aspectos industriales de la contaminación con aflatoxinas.

Problemas de las aflatoxinas en el cacahuete en Indonesia

M. Machmud

Plant Pathologist, Bogor Research Institute for Food Crops (BORIF), PO Box 368/800, Jalan Cimanggu 3A, Bogor 16111, Indonesia.

Las investigaciones sobre las aflatoxinas se iniciaron en Indonesia en 1969. Sesenta a ochenta por ciento de la producción comercial de cacahuates estaba contaminada con aflatoxinas, con niveles de 40 hasta 4,100 g kg⁻¹ de semilla; los cacahuates en el comercio al menudeo fueron los más altamente contaminados.

El procesamiento de las semillas crudas, para su conversión en otros productos, tales como mantequilla de cacahuete y torta de cacahuete fermentado, redujo significativamente la contaminación con aflatoxinas. Estudios clínicos sugirieron la existencia de una correlación positiva entre la ingestión de aflatoxinas y la incidencia de cáncer hepático en los humanos.

Se necesitan más investigaciones sobre los efectos de la infección fungosa antes de la cosecha en la contaminación con aflatoxinas después de la cosecha; el control de la contaminación durante el almacenaje; y sobre las interacciones hongo × cacahuete × medio ambiente, que favorecen la producción de aflatoxinas.

Estudios de campo sobre *Aspergillus flavus* y las aflatoxinas en el cacahuete en Australia

J.I. Pitt

Senior Principal Research Scientist, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization (CSIRO), Division of Food Research, Food Research Laboratory, PO Box 52, New South Wales 2113, Australia.

En la década pasada, las aflatoxinas han constituido un grave problema en las siembras del cacahuete en Australia. Durante la mayor parte de ese período, la División de Investigaciones sobre los Alimentos de la Organización para la Investigación Científica e Industrial del Commonwealth (CSIRO) ha desarrollado un proyecto, que actualmente continúa en marcha, con el apoyo financiero del gobierno y las empresas industriales, con especial atención en los estudios realizados bajo las condiciones existentes en las siembras de campos comerciales.

Estas investigaciones primordialmente han sido enfocados hacia el conocimiento de las variables que influyen en la invasión de los cacahuates por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, y la producción subsecuente de aflatoxinas. Los factores estudiados incluyen: niveles de infestación con *A. flavus* en los suelos; factores del medio ambiente; prácticas de manejo del cultivo en los predios rurales, que afectan las invasiones de *A. flavus*; y el efecto de los procedimientos empleados en el secado y almacenamiento de la cosecha, sobre la formación de aflatoxinas.

Se encontró que la mayoría de los suelos dedicados a la producción de cacahuates en la región de Kingaroy, contienen niveles detectables de *A. flavus*, mientras que en los suelos vírgenes colindantes, generalmente este hongo estaba ausente. Los niveles de infestación con *A. flavus* en los suelos cacahuateros varió marcadamente, desde menos de 10^2 g⁻¹ hasta niveles tan altos como 10^5 g⁻¹; los altos niveles aumentan el riesgo de invasión fungosa en el cultivo. Algunos campos tuvieron altos niveles de infestación a través de varios años. La relación *A. flavus*: *A. parasiticus* también varía considerablemente de predio a predio, y puede influir en la invasión fungosa y la producción de aflatoxinas.

Las investigaciones han demostrado que la invasión de los cacahuates por *A. flavus* ocurre antes de la cosecha. La invasión no ocurre subsecuentemente, ni tampoco se producen aflatoxinas, incluso cuando se usan los procedimientos menos eficaces de secado. En todos los ciclos agrícolas, excepto aquellos con severas sequías prolongadas, pocas aflatoxinas se producían mientras los cacahuates permanecen dentro del suelo, es decir, la mayoría de las aflatoxinas se producen en el período post-cosecha. Bajo las condiciones más favorables, los cacahuates requieren de 6 a 10 días para secarse en el campo después de haberse cosechado el cultivo, lo cual es un período de suficiente duración para que los niveles de aflatoxinas lleguen a niveles inaceptables. El secado en el campo, aun en la temporada de estiaje, no puede realizarse con suficiente rapidez, que permita asegurar que los granos se encuentren libres de aflatoxinas, al llevarse las vainas a las plantas descascadoras.

La importancia plenamente demostrada de la invasión precosecha, como condición necesaria para la producción de niveles inaceptables de aflatoxinas, ha originado intentos de predecir los niveles de aflatoxinas que pueden esperarse al entregarse la cosecha a las plantas descascadoras, a partir de los niveles de *A. flavus* presentes en el cultivo en el momento de la cosecha. Este método ya ha dado resultados prometedores, pero requiere de perfeccionamiento debido a lo cual todavía no es de utilidad práctica.

Investigaciones sobre las aflatoxinas en el Centro Nacional de Investigaciones sobre el Cacahuete de la India

M.P. Ghewande, G. Nagaraj y P.S. Reddy

Plant Pathologist, Biochemist, and Director, National Research Centre for Groundnut, Timbawadi PO, Junagadh 362 015, Gujarat, India.

Se estudió el potencial de los aislamientos de *Aspergillus flavus* para la producción de aflatoxinas, así como la toxicidad de los filtrados de los medios en los cuales se desarrollaron, sobre semillas en germinación y plántulas. Los aislamientos NRRL 3000 y V 3734/10 produjeron altos niveles de aflatoxinas en sus medios de cultivo. Los filtrados de esos aislamientos y del aislamiento NRCG AFA fueron los más tóxicos a las semillas germinadas y las plántulas. Se seleccionaron algunos cultivares comercia-

les, varias líneas avanzadas y diversas especies silvestres de *Arachis* para lograr la resistencia a la colonización *in vitro* de sus semillas por aislamientos de *A. flavus*, y baja producción de aflatoxinas. Los genotipos CGC 2,1-4, CGC 7, S 230, los descendientes de la cruce S 230 × PI 337394F, y de la cruce Latur 33 × PI 337394F, y las especies silvestres *Arachis cardenasii* y *Arachis duranensis* resultaron ser resistentes a la colonización de *Aspergillus flavus* en sus semillas. Todos los genotipos de cacahuete y tres especies silvestres de *Arachis* dieron origen a altas producciones de aflatoxinas, pero *Arachis cardenasii* y *Arachis duranensis* sólo produjeron cantidades insignificantes de estas micotoxinas.

En torta de cacahuete comercial y en torta de cacahuete desgrasada, se encontraron concentraciones de aflatoxinas que fluctuaron de 27 a 146 g kg⁻¹. La capacidad de absorber humedad, los niveles de fenoles presentes en los tegumentos de las semillas y el contenido de proteínas de las semillas aparentemente influyeron en los niveles de contaminación con aflatoxinas. Asimismo, la maceración de las semillas en varios líquidos orgánicos e inorgánicos, influyó en la intensidad con la cual ocurrían las invasiones de la semilla por *A. flavus*, y las cantidades de aflatoxinas producidas en pruebas con inoculaciones realizadas *in vitro*. Se evaluaron varios métodos para la eliminación de las toxinas presentes en materiales contaminados con aflatoxinas.

La contaminación con aflatoxinas del cacahuete en Sudán algunos países del Caribe

**B. Singh, A.S. Khalid, B. Magboul, B.O. Okezie, J.C. Anderson,
G.C. Wheelock, H. Jones y V. Caples**

Professor and Peanut CRSP Coordinator, Food Science Department, Alabama A & M University, PO Box 274, Normal, AL 35762, USA.

Los análisis realizados con los métodos de Velasco y del Instituto de Investigaciones para el Desarrollo Tropical (Tropical Development Research Institute, TDR I), en muestras recolectadas en predios rurales de dos regiones del Sudán, una de secano (El Obeid), y la otra de riego (Wad Medani), de materiales de la cosecha del ciclo 1983/84, indicaron que ninguna de las muestras contenía más de 15 g kg⁻¹ de aflatoxinas. Sin embargo, muestras recolectadas en los mercados de Khartoum y de Wad Medani contenían hasta 945 g kg⁻¹ en cacahuates crudos; hasta 517 g kg⁻¹ en cacahuates tostados; y hasta 994 g kg⁻¹ en torta de cacahuete. La torta de cacahuete preparada después de una cuidadosa selección y depuración de los granos solamente contenía 19 g kg⁻¹ de aflatoxinas. Análisis realizados en 145 muestras, en Jamaica y San Vicente, durante 1984, indicaron que solamente ocho de las muestras contenían más de 20 g kg⁻¹ de aflatoxinas.

Muestras de cacahuete tostado y de mantequilla de cacahuete, recolectadas en los mercados de Jamaica y Trinidad no contenían cantidades detectables de aflatoxinas. Sin embargo, los productos derivados de cacahuete recolectados en San Vicente tenían niveles muy elevados de aflatoxinas, que variaron desde 1 a 469 g kg⁻¹.

Colonización por *Aspergillus flavus* y contaminación con aflatoxinas del cacahuete en el Sudán

N.E. Ahmed, Y.M.E. Younis, y K.M. Malik

Plant Pathologist, Botany and Plant Pathology Section, Agricultural Research Corporation, Gezira Research Station, Wad Medani, Sudan; Lecturer and M. Sc. Student, Department of Applied Chemistry and Chemical Technology, Faculty of Science and Technology, University of Gezira, Sudan.

El efecto de diferentes regímenes de riego y fechas de cosecha, sobre la infección por *Aspergillus flavus* en el período precosecha y la contaminación de las semillas con aflatoxinas, se estudió en cuatro cultivares comerciales y dos no comerciales. Los cacahuates regados a intervalos de una, dos y tres semanas y cosechados en la fecha normal, o una semana antes y una semana después de esa fecha estaban sanos y libres de *A. flavus* y de contaminación con aflatoxinas. La colonización con *Aspergillus flavus* fue baja (2.7-7.9%) en cacahuete que permaneció dentro del suelo seis semanas después de la cosecha; en este caso, tampoco se detectó contaminación con aflatoxinas. Las enfermedades que producen marchitamiento y los daños de insectos, principalmente por larvas de coleópteros y termitas, favorecieron la infección precosecha del grano por *A. flavus* (56.4 a 69.8%) y la contaminación con aflatoxinas (18 a 21 g kg⁻¹). Los cacahuates almacenados durante tres meses en un local bien ventilado, con una temperatura de 15°C, fueron infectados a un nivel bajo y no hubo contaminación con aflatoxinas. El grado de infección aumenta con el tiempo de almacenamiento. Los cacahuates cosechados una semana antes de su madurez completa fueron los más infectados por *A. flavus*, entre las diversas semillas almacenadas, pero no hubo diferencia en este aspecto entre los diferentes genotipos estudiados. Los cacahuates en costales apilados en los lugares del descascarado se muestrearon y se analizaron, encontrándose que el 4% estaba contaminado y tenía un contenido promedio de 11 g kg⁻¹ de aflatoxinas. El 15% de las muestras recolectadas en los sitios donde estaban instalados los molinos aceiteros estaba contaminado con un promedio de 20 g kg⁻¹ de aflatoxinas. Cuando el cacahuete se dejó sobre el suelo durante dos a tres semanas después de la cosecha, en los ensayos en las áreas de riego de Gezira y Rahad, 12% de las muestras recolectadas estaban infectadas y tenían un contenido promedio de 10 g kg⁻¹. Esta producción normalmente se destina a ser procesada localmente.

Almacenamiento tradicional de cacahuates y problemas de aflatoxinas en Côte d'Ivoire: Aspectos ecológicos

A. Pollet, C. Declert, W. Wiegandt, J. Harkema y Els de Lidenk

Entomologist and Phytopathologist, Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération (ORSTOM), Centre D'Adiopodoume 212 Rue Papayesto, 75480, Paris, France; Chemical Engineer, Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ), Laboratoire centrale de nutrition animale (LACENA), BP 353 Abidjan, Côte D'Ivoire; and Food Technology Students, Department of Food Technology, Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.

Se estudiaron los problemas de almacenamiento de cacahuates en Côte d'Ivoire, durante dos períodos sucesivos de almacenamiento (1985/86 y 1986/87), desde tres aspectos diferentes: insectos dañinos, daños causados por hongos y contaminación con aflatoxinas.

Se recolectaron periódicamente muestras de los campos de productores tradicionales, dentro de las áreas cacahuateras comprendidas en este estudio y de los mercados de pueblos y ciudades.

Generalmente, las muestras procedentes de almacenes locales estaban un poco menos infectadas que las muestras procedentes de los mercados. Con pocas excepciones, casi todos los materiales muestreados localmente estaban contaminados con niveles cuantificables de aflatoxinas. Durante los dos años en que se desarrolló el estudio, 7.9% de los 434 lotes locales de semillas examinadas tuvieron contenidos arriba del valor límite de nivel de toxicidad de 250 g kg^{-1} y el 4.4% estuvieron arriba de $1,000 \text{ g kg}^{-1}$. También se encontró que el 73% de estas muestras tenían valores mayores de los 10 g kg^{-1} , autorizados como nivel sin peligro por la Comunidad Económica Europea (CEE).

Se encontró que existen correlaciones estadísticamente significativas entre la contaminación con aflatoxinas y diferentes variables meteorológicas y de condiciones de almacenamiento. Entre éstas figuran las características físicas y la edad de las vainas, así como el efecto de las condiciones atmosféricas prevalentes.

Aspectos técnicos de la investigación sobre las aflatoxinas en el cacahuate: Evolución de dispositivos para controlar las condiciones ambientales en parcelas experimentales

P.D. Blankenship, T.H. Sanders, J.W. Dorner, R.J. Cole y B.W. Mitchell

Agricultural Engineer, Plant Physiologist, Mycotoxicologist, and Laboratory Director, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service (USDA, ARS), National Peanut Research Laboratory, 1011 Forrester Drive, Dawson, GA 31742, USA; and Agricultural Engineer, USDA, ARS, Southeast Poultry Research Laboratory, Athens, GA 31742, USA.

En 1980, el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) diseñó y construyó un dispositivo para controlar las condiciones ambientales en parcelas

experimentales, en el Laboratorio Nacional de Investigación del Cacahuete del Servicio de Investigación Agrícola (ARS), para el estudio de la invasión precosecha de los cacahuates por *Aspergillus flavus*, y la subsecuente producción de aflatoxinas en los granos. Las investigaciones efectuadas requirieron de que se pudiera producir condiciones de sequía en el cultivo, así como variaciones de la temperatura del suelo bajo condiciones estrictamente controladas. Inicialmente, los dispositivos estaban constituidos por seis parcelas aisladas de 12.2 m de longitud por 5.5 m de ancho y 1.8 m de profundidad, equipados con techos accionados por motores eléctricos que permitían la exclusión de la lluvia cuando así se requería. Las variaciones de temperatura deseadas dentro de la geocarpósfera se producían por medio de resistencias eléctricas controladas termostáticamente y serpentines de enfriamiento dentro de los cuales circulaba agua previamente enfriada. Los datos sobre las condiciones del medio ambiente se obtuvieron por medio de un sistema de registro de información digital en una microcomputadora, en la cual se registraban las condiciones citadas cada dos horas, durante el desarrollo de los experimentos.

Estos dispositivos se han incrementado recientemente para poder investigar separadamente el efecto que tienen los siguientes factores: a) el esfuerzo interno de las plantas; y b) el esfuerzo interno existente en las vainas, sobre la contaminación con aflatoxinas, utilizándose para este fin dos subparcelas adyacentes en las cuales los suelos donde se encuentran situados la vaina y la planta están separados entre sí y existen condiciones independientemente controladas. Se ha diseñado e instalado un sistema de control con alarma de la temperatura, que está conectado a una microcomputadora, y que sustituye los controles manuales para regular la temperatura del suelo. Estos dispositivos han resultado ser muy funcionales hasta la fecha, y han permitido crear la diversidad de condiciones ambientales necesarias para la realización de los estudios deseados.

Condiciones ambientales requeridas para inducir la contaminación del cacahuete con aflatoxinas antes de la cosecha: Resumen de siete años de investigación

R.J. Cole, T.H. Sanders, J.W. Dorner y P.D. Blankenship

Research Microbiologist and Laboratory Director, Plant Physiologist, Mycotoxicologist, and Agricultural Engineer, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service (USDA, ARS), National Peanut Research Laboratory, 1011 Forrester Drive, Dawson, GA 31742, USA.

Las condiciones ambientales necesarias para la contaminación con aflatoxinas antes de la cosecha de granos de cacahuete aparentemente no dañados a la simple vista, se reexaminaron con base en los resultados obtenidos en los estudios realizados en Dawson, Georgia, Estados Unidos de América, durante siete ciclos agrícolas consecutivos, empleando seis parcelas con medios ambientes controlados. Los efectos de temperatura y humedad sobre la contaminación de los cacahuates con aflatoxinas

durante el período de pre cosecha fueron establecidos. Se evaluaron diversas medidas preventivas, incluyendo el uso de variedades supuestamente resistentes, aplicaciones de calcio, y diversas prácticas de riego, en parcelas experimentales con condiciones ambientales controladas. Los resultados obtenidos demostraron que los cacahuates no se contaminan con aflatoxinas, si no hay condiciones severas y prolongadas de sequía en el cultivo, a pesar de la presencia de fuertes niveles de infección (hasta de 80%) de los hongos aflatoxígenos, *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. Asimismo, se determinó que los granos de mayor desarrollo y madurez requieren de condiciones más severas de sequía para llegar a contaminarse, que los granos más pequeños e inmaduros. La mayor resistencia de los granos más grandes y maduros puede atribuirse a la presencia de fitoalexinas. Los estudios desarrollados durante 1983 corroboran la hipótesis que la contaminación con aflatoxinas durante el período de pre cosecha se origina principalmente por infecciones a través del suelo y no a partir de infecciones de los órganos florales, por transmisión de los hongos patógenos a través del aire.

Investigaciones sobre la contaminación con aflatoxinas del cacahuete: Resistencia genética

La selección de cultivares de cacahuete por su resistencia a *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* y a la contaminación con aflatoxinas

R.E. Pettit, H.A. Azaizeh, R.A. Taber, J.B. Szerszen y O.D. Smith

Associate Professor, Research Assistant, Research Scientist, and Research Associate, Department of Plant Pathology and Microbiology; and Professor, Department of Soil and Crop Sciences, Texas A & M University, College Station, TX 77483-2132, USA.

La selección de cultivares de cacahuete por su resistencia a las aflatoxinas requiere de la debida consideración de las condiciones ambientales que favorecen el desarrollo del grupo de hongos *Aspergillus flavus*. También deben tomarse en cuenta los tejidos vegetales invadidos, la época en la cual ocurre la infección, y los factores físicos y bioquímicos que limitan la invasión del patógeno y la formación de aflatoxinas. Las hojas cotiledonarias infectadas por *Aspergillus* pueden constituir una fuente primaria de inóculo.

Las cáscaras en desarrollo de todos los cultivares estudiados fueron fácilmente invadidas; pero la penetración a través de las cáscaras hacia el interior de las vainas variaba de cultivar a cultivar. Las vainas que formaban franjas de esclerénquima lignificadas en las etapas iniciales de su desarrollo fueron menos susceptibles a la penetración de las hifas que aquellas que carecían de dichas franjas. La intensidad de invasión de la semilla varía con las características del hilo y el tegumento seminal. La

presencia de hilos pequeños y cubiertos y de tegumentos compactos, con gruesas deposiciones cerosas, son importantes en la resistencia de un cultivar dado. La composición de los tegumentos y de las vainas varía entre cultivares. Compuestos inhibitorios presentes en los cotiledones deprimen el desarrollo fungoso o inhiben la formación de aflatoxinas. Los compuestos de la familia de los taninos (umbeliferona y catecol metílico), que se identificaron en algunos de los tegumentos de semillas de cacahuete, se observó que inhiben el desarrollo de *A. flavus* y la formación de aflatoxinas. La separación electroforética por desnaturalización con sulfato-dodecil-sódico ha revelado la presencia de 20 polipéptidos en cantidades que varían entre los cultivares que difieren en sus susceptibilidad a *A. flavus*. La separación de varios constituyentes vegetales para detectar la presencia de proteínas específicas, compuestos de la familia de los taninos, las ligninas, las fitoalexinas y otros compuestos, quizá pueda correlacionarse con los niveles de resistencia y podría facilitar los trabajos de selección de cultivares.

La resistencia de variedades de cacahuete a *Aspergillus flavus* en Senegal

F. Waliyar y A. Bockelée-Morvan

Assistant Principal Groundnut Pathologist, Legumes Program, ICRISAT, and Director, Annual Oil Crops Division, Institut de recherches pour les huiles et oléagineux (IRHO), Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD), 11 Square Pétrarque, 75116 Paris, France.

Durante cuatro temporadas de lluvias (1977-1980), aproximadamente 40 genotipos de cacahuete fueron evaluados y seleccionados por su resistencia, bajo condiciones de campo, a la invasión de sus semillas por el hongo aflatoxigénico *Aspergillus flavus*, en pruebas realizadas en las estaciones experimentales de Bambey y Darou, en Senegal. Se observaron diferencias significativas entre las variedades estudiadas en el momento de la cosecha, en los niveles de infección con *A. flavus* que ocurren en la semilla bajo condiciones de campo. Las resistencias de campo observadas resultaron estar positivamente correlacionadas con las resistencias a la colonización de las semillas por *A. flavus*, observadas previamente bajo condiciones *in vitro* en pruebas de inoculación realizadas en el laboratorio.

La variedad comercial 55-437 tuvo altos niveles de resistencia a *A. flavus*, tanto en las pruebas de campo como de laboratorio, mientras que otras dos variedades (73-30 y 73-33), que también se siembran en Senegal, solamente tuvieron niveles medianos de resistencia.

En investigaciones complementarias, se ha encontrado que los genotipos que poseen resistencia en sus semillas a *A. flavus* tenían una menor cantidad de *A. flavus* en la microflora de sus rhizosferas que los genotipos susceptibles a la invasión de sus semillas por el hongo citado. Las diferentes variedades, a través de los efectos sobre la microflora de sus rhizosferas, pueden influir en la composición de la microflora de los campos cacahuateros.

La presencia de aflatoxinas y cepas aflatoxinógenas de *Aspergillus flavus* en cultivares de cacahuete en Egipto

Kh. Naguib, M.M. Naguib, M.M. Daib, A.F. Sahab y H. Amra

Food and Dairy Technical Laboratory, Mycotoxins Laboratory, and Plant Protection Laboratory, National Research Centre, Dokki, Cairo, Egypt.

El uso de cultivares de cacahuete que son resistentes a la invasión y colonización de la semilla por *Aspergillus flavus*, es un posible medio de evitar o reducir la contaminación con aflatoxinas. Veintiún cultivares de cacahuete obtenidos del Instituto Internacional de Investigación sobre Cultivos en los Trópicos Semiáridos (ICRISAT), Patancheru, Andhra Pradesh, India, y un cultivar (Giza 4) de Egipto, que se incluyó como control susceptible de origen local, se probaron para evaluar su capacidad de generar aflatoxinas. Todos los cultivares generaron las aflatoxinas B₁ y B₂, aunque las cantidades generadas variaron entre los diversos cultivares. El nivel más bajo de aflatoxinas totales producidas fue de 19 180 g kg⁻¹ en semilla del cultivar Ah 7223; y el más alto, 44,290 g kg⁻¹ de semilla, en el cultivo Giza 4.

El método del ICRISAT en sus investigaciones sobre el problema de las aflatoxinas en el cacahuete

D. McDonald

Principal Groundnut Pathologist, Legumes Program, ICRISAT.

Las investigaciones desarrolladas en un gran número de países durante los años 60 y principios de los años 70, han proporcionado un excelente conocimiento de los efectos de las prácticas de manejo del cultivo, el manejo de las cosechas y las condiciones de almacenamiento sobre la contaminación con aflatoxinas del cacahuete y sus derivados. Sin embargo, las recomendaciones propuestas para manejar el problema derivadas de las investigaciones iniciales, aun cuando fueron rápidamente adoptadas por los agricultores progresistas en países con una agricultura avanzada, no lo fueron por la mayoría de los pequeños productores de cacahuete en los países en desarrollo. Lo anterior influyó en la decisión de los investigadores de cacahuete del Instituto Internacional de Investigación sobre Cultivos en los Trópicos Semiáridos (ICRISAT), de concentrar sus esfuerzos sobre la identificación y utilización de materiales con resistencia genética a la invasión de las semillas de cacahuete por *Aspergillus flavus* y a la producción de aflatoxinas.

La selección de cacahuete resistente a la invasión de sus semillas por *Aspergillus flavus* y a la producción de aflatoxinas

V.K. Mehan

Groundnut Pathologist, Legumes Program, ICRISAT.

En este trabajo se examinan las investigaciones realizadas en varios países sobre la evaluación de las respuestas del cacahuete a la colonización e infección de sus semillas por *Aspergillus flavus* y/o la producción de aflatoxinas y se resumen los avances logrados en este rubro por el Instituto Internacional de Investigación sobre Cultivos en los Trópicos Semiáridos (ICRISAT). Varios procedimientos de selección para uso en el laboratorio y en el campo se han desarrollado para la selección de cacahuete resistente a la infección de *Aspergillus flavus* y/o la producción de aflatoxinas. Los estudios realizados sobre los efectos de los factores ambientales en la invasión de las vainas y las semillas por *A. flavus* han producido información útil para el desarrollo de métodos de selección en el campo. Por ejemplo, condiciones de sequía creadas artificialmente han sido utilizadas para mejorar la selección en el campo, a gran escala, de genotipos de cacahuete con resistencia en sus semillas a la infección por *A. flavus*, en el período de precosecha.

Se identificaron varios genotipos resistentes a la infección mencionada, y algunos de estos resultaron ser también resistentes a la colonización *in vitro* por *A. flavus* en sus semillas, en pruebas de inoculación efectuadas dentro del laboratorio. Dos de los genotipos presentaron muy bajos niveles de producción de la aflatoxina B₁ cuando sus semillas fueron colonizadas por un cepa aflatoxinógena de *Aspergillus flavus*.

La selección de cacahuates basada en la resistencia de sus semillas a *Aspergillus flavus* : Métodos estadísticos para evaluar datos

M. Singh, V.K. Mehan y D. McDonald

Statistician, Groundnut Pathologist, and Principal Groundnut Pathologist, ICRISAT.

Los factores del medio ambiente influyen en la severidad con que ocurre la infección de la semilla de cacahuete por *Aspergillus flavus* y otros hongos. Esto complica la selección para lograr la resistencia a través de varios ciclos de cultivo y en diferentes localidades, debido a que los niveles de infección pueden variar considerablemente dentro de los genotipos. Se utilizaron métodos estadísticos para separar los genotipos en diferentes categorías de la relación resistencia/susceptibilidad, y en esta forma asegurar una base de comparación estable entre el cultivar testigo y los genotipos bajo prueba, en todos los ambientes. Se adoptó, asimismo, un enfoque específico para la comparación del grado y distribución de la resistencia, en cacahuates de los tipos

Spanish y Valencia. La adopción de estos procedimientos facilitarían la interpretación de los resultados de las pruebas de selección efectuados en diferentes condiciones ambientales.

La selección para lograr resistencia a *Aspergillus flavus* en el cacahuete: Avances logrados en el centro ICRISAT

M.J. Vasudeva Rao, S.N. Nigam, V.K. Mehan y D. McDonald

Groundnut Breeder, Principal Groundnut Breeder, Groundnut Pathologist, and Principal Groundnut Pathologist, Legumes Program, ICRISAT.

Los avances logrados a nivel internacional en la selección de cacahuete resistente a la colonización de sus semillas por *Aspergillus flavus* y a la contaminación con aflatoxinas, se presentan en forma resumida, y se describen las investigaciones realizadas en el ICRISAT. La resistencia a *A. flavus* puede presentarse a diferentes niveles, pero los trabajos para lograr la resistencia se han concentrado en la utilización de la resistencia de las testas de las semillas maduras. En el Instituto Internacional de Investigación sobre Cultivos en los Trópicos Semiáridos (ICRISAT), los genotipos identificados como resistentes a la colonización *in vitro* de los granos por *Aspergillus flavus*, se han cruzado con cultivares susceptibles con buenas características agronómicas, y se han obtenido varias líneas genéticas de cacahuete con resistencia estable a la colonización de la semilla, y con rendimiento y calidad de semilla aceptables. Se examina la genética de la herencia de la resistencia en las testas. Es importante que cuando realicen la selección para lograr resistencia a *A. flavus*, los fitomejoradores incorporen simultáneamente otras características de resistencia.

Los polifenoles presentes en los genotipos de cacahuete resistentes y susceptibles a la colonización de las semillas por *Aspergillus flavus*

R. Jambunathan, V.K. Mehan y Santosh Gurtu

Principal Biochemist, Groundnut Pathologist, and Senior Research Associate, ICRISAT.

Trece genotipos de cacahuates, ocho resistentes y cinco susceptibles a la colonización de la semilla *in vitro* por *Aspergillus flavus*, se evaluaron en pruebas replicadas en tres localidades de Andhra Pradesh, India. Los tegumentos de las semillas de estos genotipos se analizaron para determinar su contenido de polifenoles, usando diferentes métodos. No se observó una correlación significativa entre la colonización de las semillas y su contenido de polifenoles, lo cual corrobora observaciones anteriores

hechas en gran número de genotipos, usando un solo método de cuantificación de polifenoles.

La micoflora geocarposférica y la resistencia del cacahuete a *Aspergillus flavus*

S. Nahdi

Post-Doctoral fellow, Legumes Program, ICRISAT. Present address: Council of Scientific and Industrial Research (CSIR), Food and Drug Toxicology Centre, National Institute of Nutrition, Indian Council of Medical Research, Jamai Osmani PO, Hyderabad 500 007, India.

Cuatro genotipos de cacahuete, dos resistentes y dos susceptibles a la colonización de las semillas *in vitro* por *Aspergillus flavus* (CSIVAF) se evaluaron en pruebas de campo en el Centro ICRISAT, durante las temporadas lluviosas de 1984 y 1985. Se examinó la micoflora geocarposférica encontrándose diferencias cualitativas y cuantitativas entre los genotipos estudiados. Las poblaciones de *A. flavus* fueron mayores en las geocarposferas de los genotipos susceptibles a CSIVAF, que en los genotipos resistentes a la misma.

Los genotipos también se evaluaron en el momento de la cosecha para cuantificar los niveles de infección de las semillas por *A. flavus*. Los genotipos sensibles en la prueba CSIVAF tenían niveles más altos de infección en las semillas procedentes de vainas maduras intactas, que las semillas procedentes de genotipos resistentes en la prueba CSIVAF.

En un experimento de invernadero, se recolectaron los exudados de las vainas de cuatro genotipos. Los exudados procedentes de los dos genotipos resistentes en la prueba CSIVAF inhibieron la germinación *in vitro* de las esporas de *A. flavus* en mayor grado que los exudados de las vainas de los genotipos susceptibles en la prueba CSIVAF.

El Servicio de Información sobre Cultivos del Trópico Semiárido (SATCRIS) y la organización electrónica de datos e información sobre las aflatoxinas

L.J. Haravu

Manager, Library and Documentation Services, ICRISAT.

Se presenta una descripción del proyecto SATCRIS del Centro ICRISAT, las características de la organización electrónica de datos e información del proyecto y los servicios de recuperación y distribución de información sobre el cacahuete, así como la organización electrónica de datos e información sobre aflatoxinas.

Informes de los grupos de trabajo

Grupo I. Evaluación y vigilancia continua de la contaminación con aflatoxinas del cacahuate y sus derivados

Participantes

Nombre	Institución	País
D. McDonald (Moderador)	ICRISAT	India
P. Subrahmanyam (Comoderador)	ICRISAT	India
A. Bockelée-Morvan	IRHO	Francia
B. Coulibaly	AGC	Nigeria
R.D. Coker	ODNRI	Reino Unido
S. Nahdi	ICRISAT/NIN	India
J. Kannaiyan	Msekera RRS	Zambia
C.T. Kisyombe	Chitedze ARS	Malawi
A. Pollet	ORSTOM	Francia
R. Quitco	NAP HIRE	Filipinas
P.S. Reddy	NRCG	India
M. Sabino	Instituto A. Lutz	Brasil
B. Singh	Peanut CRSP	EUA

El interés primordial del grupo fue cómo enfocan los países el problema de las aflatoxinas en el cacahuate. Los participantes concordaron en que existe en muchos países una verdadera necesidad de poner sobre aviso a los productores, los procesadores y los consumidores de cacahuate y sus derivados, acerca de los peligros para el ganado y los peligros probables para los humanos que presenta la ingestión de cacahuates y productos derivados de éstos cuando están contaminados con aflatoxinas.

Los cacahuates raras veces se consumen como artículo independiente en las dietas humanas o en los alimentos para animales, y había el consenso que los agricultores y otras personas que intervienen en el manejo de cultivos, tales como maíz, sorgo y algodón, deberían asumir parte de la responsabilidad de comunicar al público los efectos dañinos que producen los alimentos humano y animal cuando se encuentran contaminados con aflatoxinas.

Se recomendó que los países productores de cacahuate establecieran grupos de trabajo integrados por representantes de:

Instituciones de investigación y extensión agrícola
Institutos veterinarios y de producción animal

Institutos de investigaciones médicas y de salud pública
Organizaciones de mercadeo
Asociaciones de productores
Asociaciones de procesadores
Economistas, etc.

Un grupo de esta índole podría promover la adopción de un enfoque coordinado del problema de las aflatoxinas, podría mantener informado a los sectores que definen las políticas y enviaría representantes a reuniones regionales o internacionales en las cuales se tratan aspectos pertinentes al problema.

El grupo de trabajo era del parecer que cada país debería desarrollar un sistema de evaluación y vigilancia continua del problema de las aflatoxinas a todos los niveles, incluyéndose en este, tanto la supervisión de los sectores orientados hacia la exportación de productos, como aquellos predominantemente de consumo local.

Deberán adoptarse métodos confiables y uniformes de muestreo y análisis de las aflatoxinas, que ya hayan sido probados ampliamente y que permitan la obtención de resultados estadísticamente aceptables, en base a la tecnología, infraestructura y personal existente, y el grado de exactitud requerido. Algunos de los laboratorios establecidos en los países en desarrollo en los últimos 25 años tienen facilidades limitadas, y solamente pueden llevar a cabo análisis con determinados métodos. Se reconoció la necesidad de rehabilitar estos laboratorios, de mejorar sus instalaciones y de capacitar a su personal en las nuevas técnicas analíticas. Estos laboratorios frecuentemente son las únicas instalaciones analíticas del país, y no deberán ser descartadas como obsoletas hasta que las nuevas instalaciones hayan sido terminadas.

La capacitación de personal en los métodos de muestreo y análisis de aflatoxinas es un requerimiento básico. Se recomendaron cursos regionales de capacitación para facilitar la mejoría en este rubro.

Se acordó que la manera más eficaz de librarse de la contaminación consistía en evitar la infección por *Aspergillus flavus* en todas las etapas de producción, almacenamiento y procesado de la cosecha.

Se recomendó que debe dedicarse atención al desarrollo de sistemas eficaces de eliminación de las toxinas, para uso en: a) plantas industriales de gran capacidad y en b) plantas de capacidad reducida que operan en los pequeños pueblos, a fin de proteger tanto la producción de aceite, como la de torta de cacahuete.

Si bien se concordó que existen perspectivas razonablemente aceptables de poder evitar o eliminar la contaminación con aflatoxinas de los cacahuates producidos para los mercados de exportación, había poco optimismo sobre la probabilidad de mejorías, en el futuro inmediato, en el importante sector de consumo local.

Se comentó que varios expositores en este taller han subrayado el peligro que existe de que los cacahuates contaminados que se eliminan de los productos exportados sean entregados a los mercados locales. Por lo tanto, se recomienda que aquellas personas o empresas que llevan a cabo la separación de los cacahuates contaminados, aseguren que el material altamente tóxico quede definitivamente eliminado de ser usado como alimento. Donde existen instalaciones icóneas, el aceite podrá extraerse de tales materiales y eliminarse las toxinas del mismo, pero la torta de cacahuete resultante solamente podría usarse como abono orgánico.

Las actividades de organismos, tales como el Peanut CRSP y ODNRI, que realizan estudios sobre los sistemas locales del procesado de cacahuates para el consumo humano, recibieron caluroso reconocimiento. El asesoramiento sobre los métodos empleados en tales estudios permitiría a los socioeconomistas y especialistas en economía doméstica de los países en desarrollo, hacer recomendaciones a los procesadores y consumidores, basadas en una información completa y enteramente confiable.

La idea de poder contar con un servicio de información bibliográfica, con organización electrónica de los datos, fue aceptado con gran interés por el grupo de trabajo. La propuesta de producir boletines informativos o manuales sobre el control de las aflatoxinas en los cacahuates y sus derivados fue apoyada vigorosamente.

Se expresó la necesidad de realizar reuniones periódicamente para asegurar el intercambio de información y fomentar la cooperación en las investigaciones. Esto puede lograrse mediante la realización de reuniones especiales, simultáneamente con los talleres regionales e internacionales, tal como se hizo en la reunión sobre micotoxinas, que se efectuó conjuntamente con el Congreso Internacional de Fitopatología, en Australia.

Grupo II: Métodos para analizar las aflatoxinas en el cacahuete y sus derivados

Participantes

Nombre	Institución	País
F.S. Chu (Moderador)	Universidad de Wisconsin	EUA
D.V.R. Reddy (Comoderador)	ICRISAT	India
R.J. Cole	USDA-ARS	EUA
Xiao Daren	CAAS	China
T. Goto	NFRI	Japón
S. Moody	RSBS	Australia
J.D. Reed	ILCA	Etiopía
I.A. Rana	NARC	Pakistán
A.H. Siwela	CSRI	Zimbabwe
M. Somabhi	FCRI	Tailandia
R. Jambunathan	ICRISAT	India
V. Anjaiah	ICRISAT	India
S. Jayanthi	ICRISAT	India

El grupo consideró que el tamaño de las muestras y las técnicas de muestreo deben ser apropiados a los objetivos de cada estudio. Para los estudios de vigilancia y supervisión, y cuando se seleccionan cultivares con base en su resistencia, etc., se recomienda el uso de muestras grandes. Para fines de control de calidad y cumplimiento de normas legales deberán seguirse los métodos oficiales de muestreo, tales como los del Instituto para el Desarrollo de Recursos Naturales en Ultramar (ODNRI) (adecuado hasta el nivel 30 g kg⁻¹) y de los Estados Unidos (que son preferidos al nivel de 20 g kg⁻¹ de aflatoxinas). Los procedimientos de subdivisión de las muestras y de manejo de éstas también son importantes. Se debe ejercer cuidado para evitar recontaminaciones después de efectuado el muestreo, almacenándose las muestras bajo condiciones frescas y secas.

Aunque varios expositores y participantes manifestaron que consideraban que el método de ELISA es una herramienta poderosa para la selección de los cacahuates por su resistencia a las aflatoxinas, pensaban que métodos tan bien establecidos, como el uso de minicolumnas, no deberían descartarse. En general, prevalecía el sentir que el método ELISA solamente se podría adoptar después de realizar estudios adicionales colaborativos y la aceptación del mismo por la Asociación de Químicos Analíticos (AOAC). Sin embargo, otros opinaban que el método ELISA rápido era una alternativa mejor que, por ejemplo, la prueba rápida con tarjeta, de ELISA (Quick-card test).

Se observó que, aunque se pueden obtener en el comercio estándares de aflatoxinas, la pureza de los materiales debe revisarse mediante el método de cromatografía de

capa delgada (TLC) y las concentraciones de las mismas deben determinarse en forma espectrofotométrica. Se sugirió que patrones de aflatoxinas se pusieran a la disposición, a través de acciones "internacionales". Muestras patrones de cacahuates que contienen cantidades conocidas de aflatoxinas (que pueden obtenerse de la Comunidad Económica Europea, CEE), podrían usarse como muestras testigo, para verificar la capacidad analítica y precisión de cada laboratorio. La participación en el programa internacional de muestras testigo de aflatoxinas ha sido organizado por la Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer, con oficinas en Lyon, Francia, fue mencionada como posible vía de interacción. Se recomendó que se organicen programas regionales y nacionales de análisis de muestras testigo. El grupo concordó en que solamente aquellos métodos que se hayan sometido a un estudio colaborativo y que hayan sido adoptados por un organismo patrocinador, tal como el AOAC o la EEC, deban usarse con fines de control de calidad y el cumplimiento de normas legales. Para fines de investigación, podrán usarse otros métodos que han demostrado ser comparables a los métodos oficiales.

El grupo concordó en que ELISA es un método sencillo, sensible y específico para el análisis de micotoxinas, con potencial de ser usado en el análisis cuantitativo de aflatoxinas en cacahuates y como prueba de selección en los límites inferiores de detección, de 5 a 10 g kg⁻¹. Podría automatizarse para la selección de un gran número de muestras. El alto costo de los equipos ELISA que existen en el mercado, así como la dificultad de obtención y variable estabilidad de los reactivos empleados, pueden limitar su uso en los países en desarrollo. Si bien algunos estudios han demostrado que los resultados obtenidos con ELISA son comparables a aquellos obtenidos con cromatografía de capa delgada (TLC) y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), se requieren aún más estudios comparativos. Actualmente, se llevan a cabo estudios colaborativos sobre dos métodos ELISA para la detección de aflatoxinas en productos agrícolas, incluyendo cacahuates. Si se obtienen buenos resultados, estos dos métodos probablemente serán aprobados por la AOAC. Debe recalarse que los estudios colaborativos sobre ELISA solamente evalúan los protocolos ELISA y sirven para establecer un juego de patrones para ELISA. Los usuarios tendrán que verificar la eficacia de los equipos que se encuentran en el mercado. El grupo recomendó la adopción de los siguientes criterios para la evaluación de los protocolos en estudios colaborativos:

1. Alcance normal y límites de detección (sensibilidad);
2. Flexibilidad de uso con diferentes solventes extractores;
3. Límites de la relación "señal"/"estática" o "ruido de fondo";
4. Especificidad (probabilidad de reacciones indeseables);
5. Reproducibilidad (CV), y
6. Cómo evitar interferencias causadas por la matriz de la muestra.

El grupo recomienda vigorosamente que se establezcan talleres regionales de capacitación en metodología analítica. Tales talleres deberán incluir tanto clases formales y prácticas de laboratorio sobre metodologías analíticas en general, como los métodos ELISA para el análisis de micotoxinas. Los candidatos a recibir esta capacitación deberán tener la experiencia y antecedentes pertinentes, y serán seleccionados entre los países en desarrollo. Se recomendó que un comité sea establecido para implementar lo antes expuesto.

Grupo III: Investigaciones sobre el control de la contaminación con aflatoxinas en los predios rurales

Participantes

Nombres	Institución	País
K.J. Middleton (moderador)	QDPI	Australia
R.C. Nageswara Rao (Comoderador)	ICRISAT	India
M. Arora	University College, Londres	Reino Unido U.K.
V. Ramanatha Rao	ICRISAT	India
M.J. Freire	UEM/ICRISAT	Mozambique
J.I. Pitt	CSIRO	Australia
M.J. Vasudeva Rao	ICRISAT	India
F. Waliyar	ICRISAT	India
S.N. Nigam	ICRISAT	India
P.D. Blankenship	USDA-ARS	EUA
R.J. Cole	USDA-ARS	EUA
V.K. Mehan	ICRISAT	India
R.S. Sandhu	FAO	Zambia
K.K. Shrestha	Depto. de Agricultura	Nepal
R.E. Petit	Universidad Texas A & M.	EUA
M.D. Raya	Depto. de Agricultura	Tanzania
J.H. Williams	ICRISAT	India

El grupo consideró el control de la contaminación de los cacahuates en los predios rurales, bajo dos rubros principales: primero, el desarrollo de prácticas adecuadas para los pequeños agricultores en las regiones del trópico semiárido (TSA) y, segundo, la identificación de las deficiencias más importantes en el entendimiento de los factores que determinan si el cultivo del cacahuete es invadido, o no, por hongos toxigénicos, con la subsecuente contaminación con aflatoxinas.

El grupo sintió que ya había considerable cantidad de información y recomendaciones acerca de cómo podrían los pequeños agricultores del TSA evitar, o cuando menos reducir grandemente, el riesgo de que sus cacahuates se contaminen con aflatoxinas. Se considera que el problema consiste en que hay una falta de conocimiento de los agricultores, de la necesidad de seguir las prácticas recomendadas para el control de la infección fungosa de las semillas de cacahuete, tanto antes de la cosecha, como durante el período del arranque de las plantas, su secado y la trilla de las vainas. Varios países han proporcionado a sus agricultores excelentes recomendaciones para el control de las aflatoxinas, a través de sus oficinas de extensión agrícola y su ejemplo

debe emularse por otros países. Los factores que deben subrayarse al elaborar las recomendaciones de las prácticas a seguir son: la importancia que tienen las sequías durante la última parte del ciclo de desarrollo del cultivo, porque las vainas en las plantas que sufren marchitamiento permanente durante las últimas dos o tres semanas de maduración de la cosecha, muy probablemente contendrán aflatoxinas; el papel de los insectos del suelo en predisponer a las vainas y semillas a la invasión por hongos toxigénicos; el posible papel de una deficiencia de calcio en el suelo en relación con la infección fungosa de las vainas; la importancia de arrancar oportunamente las plantas, a fin de reducir las proporciones de vainas excesivamente maduras o excesivamente inmaduras en la cosecha; el evitar daños a las vainas en el arranque de las plantas, su secado y trilla; y la importancia de contar con un lugar seco y bien ventilado para el almacenamiento de la cosecha en el predio rural. Las perspectivas de eliminar las micotoxinas del aceite de cacahuete, tanto en el predio rural como en los pueblos pequeños, se discutieron, sugiriéndose el uso de arcillas, luz solar, etc. Se requiere de la participación de especialistas en salud pública, nutrición y economía doméstica, además del personal de extensión agrícola para que los peligros de la contaminación con aflatoxinas puedan reducirse al nivel de los predios rurales o poblados pequeños. Se señaló la necesidad de capacitar al personal mencionado, a fin de prepararlo para la difusión masiva de los procedimientos de control de aflatoxinas, y se recomendó la elaboración de un boletín informativo o manual sobre el control de las aflatoxinas en cacahute.

Se discutieron las lagunas existentes en nuestros conocimientos, acerca de la forma en la cual los hongos toxigénicos *A. flavus* y *A. parasiticus* invaden las vainas y semillas de cacahuete, y de los factores del medio ambiente que influyen en este proceso. Es importante estudiar la sobrevivencia de estos hongos en el suelo de los campos cacahuateros y descubrir en qué forma el tipo de suelo, sistema de manejo del cultivo, y las condiciones de temperatura y humedad influyen en las invasiones fungosas. La producción de esclerosis puede ser importante. La transmisión en la semilla de *A. flavus* puede influir en la acumulación de inóculo fungoso en los suelos cacahuateros. Se ha sugerido a veces que cuando los cacahuates contienen niveles moderadamente altos de aflatoxinas, pueden emplearse como semilla para siembras. Se sabe que esta es una práctica peligrosa, ya que tales cacahuates bien pudieran contener micelios viables de *A. flavus* y bajo condiciones desfavorables a la germinación de la semilla, dan origen a fallas completas en la emergencia, debido a la necrosis de las radículas, causadas por la presencia de aflatoxinas en las plántulas nacientes. Se ha sugerido que los cacahuates o torta de cacahuete contaminados con aflatoxinas podrían usarse como abonos orgánicos. Esto quizá sea factible donde el calentamiento durante el proceso de extracción del aceite mata los micelios fungosos presentes, pero el uso de semillas o torta de cacahuete que contienen *A. flavus* en forma viable, podría incrementar grandemente la población de este hongo en el suelo y exacerbar el problema de contaminación con aflatoxinas en las siembras subsecuentes de cacahuete. Hay poca información definitiva sobre los mecanismos de la resistencia en los ginóforos, vainas y semillas a la invasión por *A. flavus* y *A. parasiticus*. Estudios adicionales deben efectuarse con cultivares resistentes y susceptibles para examinar, en ambos casos, los procesos de infección y colonización de las vainas y las semillas. La

resistencia química en la cáscara de las vainas es preferible a este tipo de resistencia en la semilla, porque los compuestos químicos protectores podrían tener efectos antinutricionales, o tóxicos, cuando fueran ingeridos por seres humanos o animales. Hubo interés en las investigaciones sobre la producción de fitoalexinas en las semillas de cacahuete, y se considera que sería muy útil que se pudiera obtener mediante el fitomejoramiento un cultivar cuyas semillas retuvieran la capacidad de producir fitoalexinas hasta que maduraran las plantas.

Contar con información definitiva sobre los mecanismos de resistencia de las vainas y semillas a la invasión fungosa, facilitaría grandemente los trabajos genéticos para la obtención de cultivares resistentes. Las contribuciones de diferentes mecanismos a la resistencia total podrían evaluarse, y las técnicas de selección por resistencia, mejorarse. El fitomejoramiento para lograr resistencia es una importante meta a largo plazo.

Se considera que un estudio global sobre la presencia de cepas toxigénicas y no toxigénicas de *A. flavus* y *A. parasiticus* sería valioso. Esto requeriría la identificación precisa de las dos especies citadas y una evaluación cuidadosa de sus poblaciones en la micoflora del suelo.

Se expresó la necesidad de capacitar personal en los métodos de selección para lograr resistencia y en las técnicas empleadas en el análisis de la micoflora del suelo. La información existente sobre métodos de selección podría incluirse en el boletín informativo propuesto.

Grupo IV: Investigaciones sobre el control de la contaminación con aflatoxinas en el almacenamiento, transporte, procesado, etc.

Participantes

Nombre	Institución	País
T.O.M. Nakayama (Moderador)	Peanut CRSP	EUA
J.A. Wightman (Comoderador)	ICRISAT	India
R.V. Bhat	NIN	India
G. Chandrashekhar	IOPEA	India
C.L.L. Gowda	ICRISAT-AGLN	India
M. Machmud	BORIF	Indonesia
G.V. Ranga Rao	ICRISAT	India
M. Read	PMB	Australia
T. Shantha	CFTRI	India
D.B.T. Wijeratne	Dirección de Agricultura	Sri Lanka
H. Amra	NRC	Egipto
N.E. Ahmed	Gezira ARS	Sudán

Las discusiones cubrieron los problemas de contaminación con aflatoxinas durante el manejo postcosecha, el almacenamiento y el procesado de los cacahuates. Se concluyó que el desarrollo de *Aspergillus flavus* y la producción de aflatoxinas en los cacahuates o sus derivados, podría ocurrir en todas las etapas, y por estar las conidias del hongo presentes casi universalmente, el factor determinante más importante es el contenido de humedad presente en los cacahuates o sus derivados. Se subrayó la necesidad de secar las semillas hasta que su contenido de humedad no presente riesgos. La semilla almacenada puede absorber del aire humedad suficiente para permitir el desarrollo de *A. flavus*, si existe una infestación de insectos en las vainas o semillas, o si hay alta humedad relativa durante varias semanas. Los métodos de vigilancia constante y de control de las infestaciones de insectos están bien establecidas y son de uso común en depósitos y almacenes bien organizados. Debe evitarse, de ser posible, la ubicación de depósitos de cacahuates en áreas que tienen alta humedad relativa. Se sugirió que se pidiera a la unidad de agroclimatología del ICRISAT, que compilara la información existente sobre la humedad relativa de las principales regiones productoras de cacahuete en diferentes países, durante los meses subsiguientes a la cosecha de este cultivo. Se señaló, asimismo, que donde los cacahuates son un producto de exportación, probablemente serán almacenados bajo condiciones muy húmedas en las proximidades de algún puerto marítimo, mientras llega el momento de embarque para su transporte a ultramar. La condensación de la humedad presente en las bodegas de los barcos que transportan productos de los trópicos a las

regiones templadas, puede también dar origen al humedecimiento de los cacahuates y al desarrollo de hongos toxigénicos. Lo antes expuesto fundamenta la necesidad de realizar análisis de aflatoxinas en los lotes de cacahuates, al llegar éstos a sus destinos, y también señala que el proceso de eliminación de toxinas debe realizarse en el área o país donde el producto va a ser procesado, a menos de que se establezcan medidas de protección adecuadas que eviten la recontaminación de los materiales tratados.

Se trató ampliamente la eficiencia del muestreo de cacahuates y sus derivados y se describieron los trabajos que se desarrollan en el Instituto para el Desarrollo de Recursos Naturales en Ultramar (ODNRI) para refinar el plan del Instituto de Producción Tropical. Esto incluye la simulación en computadora e investigaciones para encontrar modelos matemáticos apropiados que representen la distribución de las aflatoxinas en las muestras. La necesidad de usar métodos confiables y debidamente calibrados en los análisis de las aflatoxinas también se recaló.

El grupo apoya fuertemente la necesidad de realizar investigaciones adicionales sobre la eliminación de las toxinas de los cacahuates y sus productos derivados. La contaminación de lotes de semillas enteros puede reducirse mediante la eliminación de las semillas decoloradas o visiblemente dañadas por el ataque de hongos. Sin embargo, puede haber un problema en lo referente al uso subsecuente que se da a las semillas desechadas. Estas probablemente tienen altos niveles de contaminación con aflatoxinas y no deben ser usadas en el alimento humano o animal. Se podría extraer su aceite, pero éste probablemente tendría un nivel más elevado que lo normal de ácidos grasos libres y probablemente también requerirá un tratamiento especial para eliminar aflatoxinas. La eliminación de las toxinas de las tortas y granulados de torta de cacahuete se examinó con especial atención al uso del amoniaco. Es el parecer general que investigaciones adicionales son necesarias para esclarecer la posible toxicología de los productos derivados de cacahuete, a los cuales se hayan eliminado las toxinas. Se ha sugerido que a estos productos se les podría eliminar las toxinas en los puertos de desembarcación, dado que existen disposiciones legales sobre su almacenamiento y para su procesado bajo fianza, en los países importadores.

Se concordó en la necesidad de iniciar programas de capacitación en el manejo postcosecha de los cacahuates, en los procedimientos de almacenamiento (incluyendo el combate de plagas y la prevención del humedecimiento o hidratación de los granos), en el muestreo y análisis de aflatoxinas y en los procesos de eliminación de las toxinas. Se sugirió que el ICRISAT podría informar a los programas e instituciones nacionales acerca de cursos que se imparten en diferentes partes del mundo, sobre diversos aspectos del problema de las aflatoxinas y poner a los organizadores de tales cursos en contacto con las instituciones o personas idóneas, en países que estarían interesados en los mismos, a fin de que propusieran nombres de participantes. La propuesta del ICRISAT de producir un boletín informativo sobre aflatoxinas en el cacahuete con información actualizada acerca de los procedimientos para su control, fue apoyada en forma unánime. La creciente comprensión de la importancia de las aflatoxinas puede originar una gran demanda de programas de capacitación, tanto de índole general como especializada, lo cual requerirá del establecimiento de una estrecha colaboración entre las organizaciones regionales e internacionales responsables de combatir el problema de las aflatoxinas a fin de poder satisfacer la demanda mencionada.

Recomendaciones

El taller identificó varias áreas que son motivo de preocupación, en relación con la contaminación del cacahuete con aflatoxinas, y formuló recomendaciones que se exponen en detalle en los informes de los grupos de trabajo. Las recomendaciones generales del taller son las siguientes.

Información y capacitación

El taller subrayó la necesidad de aumentar la comprensión de los peligros de la contaminación con aflatoxinas en los cacahuates y sus derivados, entre grupos internacionales, gobiernos nacionales, la industria cacahuatera, los productores y los consumidores. Las organizaciones tales como la FAO, OMS, CEE, etc., podrían hacer más en este respecto y podrían cubrir el problema de las aflatoxinas en todos los productos comerciales. Los gobiernos nacionales probablemente ponen mayor atención a los consejos recibidos de la FAO y OMS que las que reciben de otras organizaciones. La necesidad de lograr que la información sobre el problema de las aflatoxinas en cacahuete pueda obtenerse con mayor facilidad fue subrayada. Se alentó al ICRISAT a proceder a la organización electrónica de la bibliografía existente sobre aflatoxinas, y a organizar la elaboración de un manual o boletín informativo sobre muestreo y métodos analíticos, y sobre prácticas de manejo del cultivo para combatir las aflatoxinas en el cacahuete. También se sugirió que el ICRISAT podría funcionar como una bolsa informática, que haría del conocimiento de todos los organismos responsables del combate del problema de las aflatoxinas, los lugares y fechas en que se llevarán a cabo cursos de capacitación, talleres, etc., sobre diversos aspectos de interés para ellos.

Estrategias

Los grupos interesados, AGC, CEE, FAO y el Codex Alimentarius, deben continuar trabajando para lograr el establecimiento de legislación internacional uniforme, que reglamente los niveles aceptables de aflatoxinas en los cacahuates y sus derivados para el consumo humano o animal. A nivel nacional, se recomienda a los países que organicen grupos de trabajo interdisciplinarios, para que coordinen la evaluación del problema de las aflatoxinas en su país; que designen una agencia gubernamental responsable de darle seguimiento a las acciones requeridas; que organicen la vigilancia constante de los niveles de aflatoxinas presentes en los alimentos humano y animal e inicien y coordinen las investigaciones necesarias para la elaboración de recomendaciones para combatir las aflatoxinas a todos los niveles. Se pidió que se dedicara especial atención a asegurar que las medidas utilizadas para reducir los niveles de aflatoxinas en los cacahuates destinados a la exportación no agraven el problema existente en los cacahuates destinados al consumo local.

Investigación requerida

Debe quedar claramente definida la investigación requerida en función de los problemas existentes en cada país y de la infraestructura y personal que se dispone para desarrollar investigaciones sobre aflatoxinas. El programa debe desarrollarse con las tecnologías más apropiadas y con la participación de las organizaciones más relevantes. La capacitación de personal en las nuevas técnicas será necesaria en muchos países, si se desea lograr progresos rápidos. Se reconoció la necesidad de cooperación nacional e internacional, tanto en la capacitación del personal, como en el desarrollo de las investigaciones requeridas.