

Hongos Micotoxigénicos presentes en Maní procesados de manera Artesanal e Industrial en la ciudad de Cali

Sebastián Garzón Ruiz
Ronald Alexis Vélez Castaño

Directora
Luz Dary Caicedo Vejarano
Codirector
Carlos Andrés Martínez Garay

Universidad Santiago de Cali
Facultad de Ciencias Básicas
Programa de Microbiología
Cali, Colombia
2022

**Hongos Micotoxigénicos presentes en Maní procesados de manera
Artesanal e Industrial en la ciudad de Cali**

**Sebastián Garzón Ruiz
Ronald Alexis Vélez Castaño**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:
Microbiólogo**

**Directora
Luz Dary Caicedo Vejarano
Codirector
Carlos Andrés Martínez Garay**

**Línea de Investigación:
Aislamiento de hongos patógenos
Grupo de Investigación:
Micología**

**Universidad Santiago de Cali
Facultad de Ciencias Básicas
Programa de Microbiología
Ciudad, Colombia
2022**

IMPACTOS

Relacione el (los) impacto(s) que presentó el Trabajo de Grado

IMPACTO	PRODUCTO	BENEFICIARIO(S)
Económico	Se pueden mejorar algunas condiciones de limpieza del maní antes del ser procesado.	La comunidad en general
Responsabilidad social	Idem	Idem
Científico	Aporta nuevos conocimientos acerca de los hongos que presenta el maní en esta ciudad	Comunidad científica y en general
Indicadores de Gestión	Se presentó en el Encuentro de Semilleros institucional 2022	La comunidad académica, tesis de dos estudiantes de microbiología.
Tecnológico		
Técnico		
Ambiental		
Social		
Cultural		

*Incluir los productos obtenidos derivados de la investigación como: apropiación social del conocimiento, generación de nuevo conocimiento entre otros.

Hongos Micotoxigénicos presentes en Maní procesados de manera Artesanal e Industrial en la ciudad de Cali

Vélez-Castaño Ronald Alexis ¹, Garzón-Ruiz Sebastián ¹, Martínez-Garay Carlos Andrés ²,
Caicedo-Bejarano Luz Dary²

¹ estudiantes de la Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Santiago de Cali. Grupo de Investigación en Micología, Línea de investigación, aislamiento de hongos patógenos. Campus Pampalinda Calle 5 # 62-00. Santiago de Cali. Colombia.

² docentes Grupo de Investigación en Micología, Línea de investigación, aislamiento de hongos patógenos. Campus Pampalinda Calle 5 # 62-00. Santiago de Cali. Colombia.

RESUMEN

El maní (*Arachis hypogaea*) es un fruto seco con alto valor nutritivo que lo convierte en un sustrato ideal para el crecimiento de hongos y la contaminación por micotoxinas. En este estudio se determinó la presencia de hongos con potencial micotoxigénico en maní procesado de manera artesanal, industrial y crudo proveniente de tiendas y supermercados de la ciudad de Santiago de Cali. Se analizaron un total de 204 muestras de maní, 60 crudo, 60 industrial y 84 artesanal. El porcentaje de contaminación se midió con el método de plaqueo directo en agar DRBC y el análisis cualitativo de aflatoxinas con agar Coco. En este estudio se realizaron 1824 aislamientos con un porcentaje de contaminación de 77,4%, 12,45% y 10,14% para maní crudo, industrial y artesanal respectivamente. Los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Rhizopus* se presentaron con mayor frecuencia. Se encontró que 22 de 31 cepas de *Aspergillus* sección *Flavi* dieron positiva para la prueba cualitativa de aflatoxinas.

Palabras clave: *Arachis hypogaea* , Hongos micotoxigénicos, plaqueo directo.

Mycotoxigenic fungi present in peanuts processed from artisanal and industrial way in the city of Cali

ABSTRACT

The peanut (*Arachis hypogaea*) is a nut with high nutritional value that makes it an ideal substrate for fungal growth and mycotoxin contamination. This study determined the presence of fungi with mycotoxigenic potential in artisanal, industrial, and raw processed peanuts from stores and supermarkets in the city of Santiago de Cali. A total of 204 peanut samples were analyzed, 60 raw, 60 industrial and 84 artisanal. The percentage of contamination was measured with the direct plating method on DRBC agar and the qualitative analysis of aflatoxins with Coco agar. In this study, 1824 isolates were made with a contamination percentage of 77.4%, 12.45% and 10.14% for raw, industrial, and artisanal peanuts, respectively. The genera *Aspergillus*, *Penicillium* and *Rhizopus* occurred most frequently. It was found that 22 out of 31 strains of *Aspergillus* section *Flavi* were positive for the qualitative aflatoxin test.

Key words: *Arachis hypogaea* , Mycotoxigenic fungi, direct plating..

INTRODUCCIÓN

El cacahuate *Arachis hypogaea* pertenece a los cultivos oleaginosos más relevantes del negocio agrícola mundial. Es nativo de América del Sur y cultivado en diversos países de climas tropicales, sub-subtropicales y templados cálidos [1][2][3]. En Colombia es conocido con el nombre de maní. Esta semilla proviene de una planta leguminosa, anual, perteneciente a la familia Fabaceae, considerada como un fruto seco, subterráneo, cultivado en suelos profundos bien drenados y ligeramente ácidos. [4][5] Este producto es de uso popular en la cocina colombiana y es la base de numerosas preparaciones gastronómicas como cremas, mantequilla de maní, pasabocas, helados, pasteles, entre otros muchos usos. En Colombia se produce principalmente en los departamentos de Cauca, Nariño y Tolima. [6][7][8]

El maní es un cultivo rentable y confiable, en la actualidad ha tenido más atención de los consumidores por ser una semilla saludable, ya que actúa como una fuente de aceite mono insaturado saludable para el corazón, brinda gran variedad de micronutrientes y compuestos bioactivos que ayudan a mejorar la espermatogénesis y la cicatrización de heridas.[9][10] Es una semilla rica en carbohidratos, proteínas, lípidos, fibra entre otros nutrientes que son esenciales para satisfacer necesidades nutricionales. Es uno de los frutos secos que se consumen con mayor frecuencia en todas partes del mundo y ha suplido la carencia de proteínas de algunos países en vías de desarrollo. [11][12][13]

El alto valor nutritivo del maní lo convierte en un sustrato ideal para el crecimiento de hongos y la posible contaminación por micotoxinas.[14][15] Algunos investigadores han encontrado una correlación positiva entre la frecuencia de hongos micotoxigénicos en maní y niveles de micotoxinas. [16] [17] Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por estos microorganismos, siendo altamente cancerígenos y mutagénicos por lo cual han atraído la atención mundial debido a sus efectos toxicológicos para humanos y animales que pueden causar defectos de desarrollo y supresión del sistema inmunitario e incluso la muerte en algunos casos. [18] Los cultivos de maní son susceptibles a enfermedades y plagas, que junto con algunas condiciones ambientales pueden provocar el estrés en las plantas haciéndolas más susceptibles a la contaminación por hongos [19]. La presencia de estos hongos está condicionada por las fluctuaciones del clima, las lluvias, las altas temperaturas y la humedad relativa, entre otros factores, condiciones que favorecen su proliferación en las diferentes etapas del proceso de elaboración del producto [20][21].

La producción artesanal, que generalmente es a pequeña escala, puede también incrementar el desarrollo de estos hongos y sus metabolitos secundarios debido a que no cuentan con condiciones adecuadas para el procesamiento de maní, comparado con técnicas industrializadas que tienen un mejor manejo de las buenas prácticas de manufactura y que cumplen los requisitos exigidos por las entidades reguladoras de Colombia. [22] En Colombia se dispone de la Resolución del Ministerio de Salud y Protección Social No. 4506 de 2013, en la cual muestran los niveles máximos de aflatoxinas para productos derivados de cereales, entre ellos el maní para consumo humano, con un nivel máximo de 15 µg/kg para maní que vaya a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico. Se dispone en Colombia de la Norma Técnica Colombiana NTC 3581 sobre límites de aflatoxinas totales en alimentos, la cual es de voluntaria adopción y fue establecida en consenso por el ICONTEC. [23]

Los cultivos de maní frecuentemente se ven afectados por especies de hongos del género *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*. [24][25][26] El crecimiento de estos hongos se puede dar en todos los puntos del procesamiento del maní, desde el cultivo, almacenaje de la materia prima, procesamiento, almacenamiento del producto terminado, empaques, distribución y en los puntos de venta [27]. Se ha estimado que más de cinco mil millones de personas en países en vía de desarrollo están en riesgo de exposición a micotoxinas provenientes de alimentos [28][29]. La presencia de estos microorganismos representa una amenaza potencial para la salud humana, siendo así un problema de seguridad alimentaria con grandes consecuencias monetarias y de materia prima. [30] El maní es un alimento muy consumido en Colombia y se incluyen en muchas de las preparaciones típicas de la zona andina por lo que se comercializa todos los días, tiene una gran demanda y hace parte de la canasta familiar. [31]; para el año 2019 la producción de maní en el país fue de 7787.44 ton [32][33] y en el primer trimestre del 2021 se importaron 3969 toneladas, un 51,02% que proviene de Argentina; el 28,65% de Estados Unidos, el 8,71 del Brasil y el 11,59% se importa de otros países como México y la India [34][35]. El gran consumo de este producto y la incidencia de hongos micotoxigénicos como *Aspergillus* sección *Flavi* (*A. flavus*), especies de *Penicillium* y *Fusarium* a lo largo de la cadena de suministro es motivo de preocupación por lo que se decidió hacer este estudio

que tuvo como objetivo Determinar la presencia de hongos con potencial micotoxigénico en maní procesado de manera artesanal, industrial y crudo en tiendas y supermercados de la ciudad de Santiago de Cali, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y muestreo

El muestreo se realizó en tiendas y supermercados de la ciudad de Santiago de Cali, departamento del Valle del Cauca. La ciudad de Cali se encuentra a una altura promedio de 1000 metros sobre el nivel del mar, con una temperatura media anual de 25.0°C y una humedad relativa del 72.2% según el Instituto de Hidrología, meteorología y estudios ambientales (IDEAM). [36] Para él estudió se analizaron un total de 102 muestras por duplicado, de las cuales 30 fueron de maní sin procesar, 30 de maní procesado de manera industrial y 42 de maní procesado artesanalmente. Los muestreos se realizaron cada 15 días durante un período de 3 meses. En cada muestreo se tomaron 17 muestras, de las cuales 5 de ellas fueron muestras de maní con marca registrada (industrial); 5 de maní crudo comprados en supermercados de cadena y 7 muestras de maní procesado de manera artesanal comprado en tiendas de barrio.

Desinfección de superficies

La desinfección de superficies se llevó a cabo mediante la inmersión de las semillas de maní en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 0.4%. Se sumergieron entre 8 a 10 granos de maní por 2 minutos en la solución y se agitó periódicamente, luego se retiró el NaClO al 0.4%. Este proceso se realizó en vasos de precipitados de 250 a 500 ml. Una vez terminado el tiempo de desinfección, se retiraron las semillas del NaClO y se sumergieron por un minuto en agua destilada estéril, se utilizaron pinzas estériles para agitar las semillas y después se decantó el agua. El proceso se realizó por triplicado (3) con cada una de las muestras de maní (crudo, industrial, artesanal).

Cultivo e identificación de Hongos

Para determinar el porcentaje de contaminación de las semillas de maní se utilizó el método de plaqueo directo en agar DRBC dicloran rosa de bengala cloranfenicol.[37] Y para la identificación de los hongos se realizaron aislamiento purificados de los hongos aislados en cajas de Petri con agar DRBC (MERCK Ref. 100466) [38]. Después de la desinfección y el enjuague, las semillas de maní se pusieron sobre el agar a razón de 8 a 10 semillas de maní por placa. Para este procedimiento se utilizaron pinzas estériles y se cubrieron las cajas con esparadrapo. Las placas con las semillas se dejaron en posición horizontal, durante 5 días a 25 °C.

Identificación de las cepas de hongos

La identificación de los hongos se realizó según las características macroscópicas de las colonias, analizando su anverso, el reverso, presencia de exudados, de pigmentos en el medio. Las observaciones microscópicas se analizaron por disociación de las colonias mediante el sistema de la cinta adherente y las dos agujas, ambos procesos en azul de lactofenol. Las observaciones se realizaron en dos microscopios de la marca Olympus HX 21. Para la identificación morfológica se utilizaron las descripciones y claves de Hoog y otros investigadores [39] [40] [41].

Conservación de las cepas de hongos

Las cepas de hongos aisladas del maní se conservaron en tubos de vidrio con agua destilada estéril y tapa de plástico ajustada para evitar evaporación de los aislados. Se ocuparon 5 tubos por cada cepa y se conservaron a temperatura ambiente y en refrigeración a una temperatura entre 5 – 7 °C. Se usaron tubos con agar inclinado con el medio de cultivo Papa dextrosa agar (MERCK) y se inocularon con el hongo, se dejaron crecer y luego se les agregó en la superficie aceite mineral estéril. Se taparon con esparadrapo para realizar revisiones cada 3 meses [42].

Análisis cualitativo de aflatoxinas:

Se prepararon dos medios de coco, medio de agar de coco (CAM) y medio de agar con leche de coco (CMA) respectivamente, con algunas modificaciones. En la preparación CAM se obtuvo coco desecado localmente (proteína 2 g, carbohidratos 22,5 g, grasa 17,5 g/50 g según informe de la empresa). Se mezclaron 100 g de polvo de coco desecado con 600 ml de agua caliente en un embudo de separación. 350 ml de extracto claro se separaron lentamente del fondo del embudo. CMA fue preparado con leche de coco local (proteína 0,65 g, carbohidrato 1,05 g, grasa 7,5 g/50 ml según informe de la empresa). El pH de ambos medios se ajustó a 6,8 con NaOH 2 N. Se añadió agar Bacto (15 g/l), la mezcla se calentó a ebullición y se sometió a autoclave durante 20 min a 1,05 kg/cm², y se vierte en placas estériles. El centro de la placa estaba inoculado con 5 µl de suspensión de esporas e incubado en la oscuridad a 28°C. La presencia o ausencia de un anillo de fluorescencia en el agar alrededor de las colonias bajo luz ultravioleta después de 7 días de incubación fue anotado y los resultados se calificaron como positivos o negativos. [43]

Análisis de resultados

Para los análisis se reportaron los porcentajes acumulados de las especies aisladas durante cada uno de los muestreos. Los datos se reportaron por porcentajes de frecuencia de aislamientos. Por otra parte, los datos se trataron de manera descriptiva a partir de los gráficos de comparación entre diferencias de porcentajes de variables cualitativas, determinando el intervalo de confianza del 95%. Para describir, comparar y representar gráficamente las variables se utilizó el programa InfoStat versión 2018. Se aceptó un nivel de significancia con un error $\alpha = 0.05$.

RESULTADOS

Los resultados del estudio muestran que de las 204 muestras analizadas se obtuvieron 1824 aislamientos de hongos de los cuales 1412 (77,41%) provenían de las muestras de maní crudo, seguido de 227 (12,45%) del maní de origen industrial y de 185 (10,14%) del maní hecho de manera artesanal; al hacer los análisis estadísticos no se encontraron diferencias significativas con un p – valor de 0,0592 (Chi cuadrado de Pearson).

El 95% de las cajas de Petri utilizadas para el plaqueo directo dieron positivo para la presencia de hongos. Al hacer la identificación de las morfoespecies se logró determinar la presencia de 22 géneros de hongos, siendo el género *Aspergillus* el encontrado con mayor frecuencia, en especial *Aspergillus sección Flavi* (*A. flavus*) con un porcentaje del 44,7% en maní crudo, 3,5 % en industrial y 13,5% en maní artesanal y *Aspergillus sección Nigri* (*A. niger*), con un porcentaje de 26,3% en maní crudo seguido de 7,5% en maní artesanal y 4,9% en maní industrial. *Rhizopus stolonifer* fue otro de los hongos que creció con mayor frecuencia, con un porcentaje de 28,5% en maní crudo, 23,8% en maní artesanal y 14,1% en maní industrial; el género *Penicillium* spp con un porcentaje del 43,2% en maní industrial, en los sustratos de maní crudo y artesanal su frecuencia fue del 0,2% y 5,4% respectivamente. El número de aislamientos y los porcentajes de contaminación del maní de los hongos mencionados anteriormente y de los demás hongos encontrados se pueden ver en la tabla 1 y figura 2.

Tabla 1. Frecuencia de aislamiento y densidad relativa de hongos a partir de muestras de maní. (Elaboración propia)

Hongos aislados	Crudo		Artesanal		Industrial	
	TC	%	T.C	%	T.C	%
<i>Aspergillus sección Flavi</i> (<i>A. flavus</i>) **	631	44,7	8	3,5	25	13,5
<i>Aspergillus sección Nigri</i> (<i>A. niger</i>)	372	26,3	17	7,5	9	4,9
<i>Aspergillus sección Aspergillus</i> (<i>A. glaucus</i>)	0	0,0	2	0,9	0	0,0
<i>Aspergillus sección Versicolores</i> (<i>A. versicolor</i>)	0	0,0	1	0,4	0	0,0
<i>Aspergillus sección Fumigati</i> (<i>A. fumigatus</i>)	0	0,0	8	3,5	1	0,5
<i>Rhizopus stolonifer</i>	402	28,5	32	14,1	44	23,8
<i>Penicillium</i> spp **	3	0,2	98	43,2	10	5,4
<i>Paecilomyces variotii</i> **	1	0,1	0	0,0	0	0,0
<i>Phoma</i> sp	1	0,1	0	0,0	0	0,0

<i>Chrysonilia sitophila</i>	0	0,0	8	3,5	27	14,6
<i>Rhizomucor</i> sp	1	0,1	0	0,0	0	0,0
<i>Mucor</i> sp	1	0,1	0	0,0	0	0,0
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	0	0,0	10	4,4	2	1,1
<i>Mycelia sterilia</i>	0	0,0	12	5,3	45	24,3
<i>Scedosporium apiospermum</i>	0	0,0	8	3,5	0	0,0
<i>Epicoccum</i> sp	0	0,0	1	0,4	0	0,0
Levaduras	0	0,0	3	1,3	13	5,4
<i>Artographis</i> sp	0	0,0	0	0,0	1	0,5
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	0	0,0	0	0,0	1	0,5
Complejo <i>Fusarium solani</i> (FSSC) **	0	0,0	19	8,4	2	1,1
<i>Trichoderma harzianum</i>	0	0,0	0	0,0	2	1,1
<i>Nigrospora</i> sp	0	0,0	0	0,0	3	1,6
TOTAL	1412	77,41%	227	12,45%	185	10,14%

T.C = Total contados.

Alta presencia = (más de 45 para maní crudo) (más de 30 para maní artesanal e industrial)

Presencia moderada = (entre 20 y 45 para maní crudo) (entre 15 y 30 para maní artesanal e industrial)

Baja presencia = (menor de 20 para maní crudo) (menor de 15 para maní artesanal e industrial)

** Hongos reconocidos como altos productores de micotoxinas o micotoxigénicos.

Los resultados con relación a los diferentes muestreos se muestran en la figura 1. Durante el primer muestreo la especie *Rhizopus stolonifer* presentó la mayor frecuencia con un porcentaje del 53.3%, seguido de *Aspergillus flavus* con un porcentaje del 24.2%, *Aspergillus niger* del 16.1%, *Mycelia sterilia* 3.5%, seguido de levaduras con un 1.8%, y las especies *Aspergillus glaucus*, *Mucor* spp y *Scopulariopsis brevicaulis* con 0.4%. Para el segundo muestreo la especie *A. flavus* fue la más frecuente con un porcentaje del 35.1% seguido de *A. niger* (32.2%), *R. stolonifer* (31.6%) *M. sterilia* (0.8%) y *Fusarium solani* (0.3%) Para el tercer muestreo *A. flavus* con un porcentaje del 36.1%, seguido de *A. niger* con 33.1% y *R. stolonifer* con 21.6%. Las especies *Cladosporium sphaerospermum* y *Trichoderma harzianum* con 0.7%. Por otra parte, *A. glaucus*, *A. versicolor*, *Penicillium* spp, *Paecilomyces variotii*, *Phoma* sp, *Rhizomucor* sp, *Epicoccum* sp, *Artographis* sp con un porcentaje del 0.3%. Para el muestreo cuatro *A. flavus* con 54.9%, seguido de *R. stolonifer* con 15.7% y *A. niger* con 5.1%. Las especies *Penicillium* spp y *Cladosporium sphaerospermum* con un porcentaje del 4.3%, *F. solani* (6%), *Chrysonilia sitophila*, *M. sterilia*, Levaduras con 2.1%. En el quinto muestreo *A. flavus* con una frecuencia del 34.8%, *A. niger* con 28.7% y *R. stolonifer* con 21.1%. *C. sitophila* con 7.4%, *M. sterilia*, 5.3%, *F. solani* (1.5%) y las levaduras un porcentaje del 1.3% y en el sexto muestreo, *Penicillium* spp fue la especie más aislada con porcentaje del 43.7%, *A. flavus* con una frecuencia del 38%, *R. stolonifer* (9.2%), *M. sterilia* (4.8%), *A. niger* (2.2%) y *Nigrospora* sp (1.3%). Las especies *C. sitophila* y *A. fumigatus* reportaron un porcentaje de 0.4%.

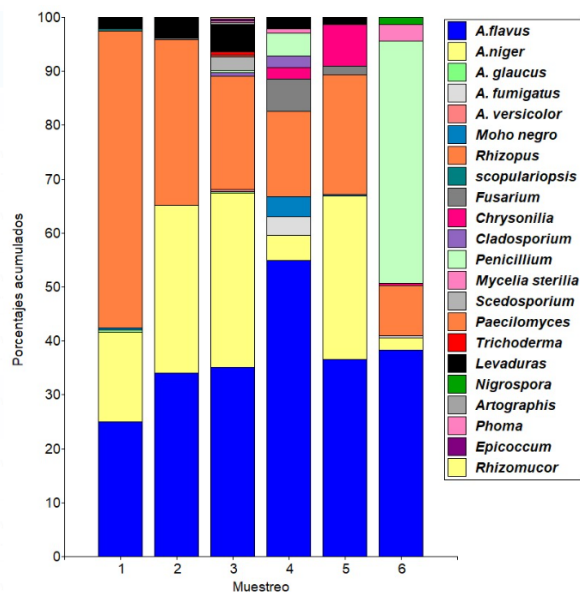


Figura 1. Gráfica de porcentajes acumulados de los hongos aislados en diferentes muestreos (Elaboración propia)

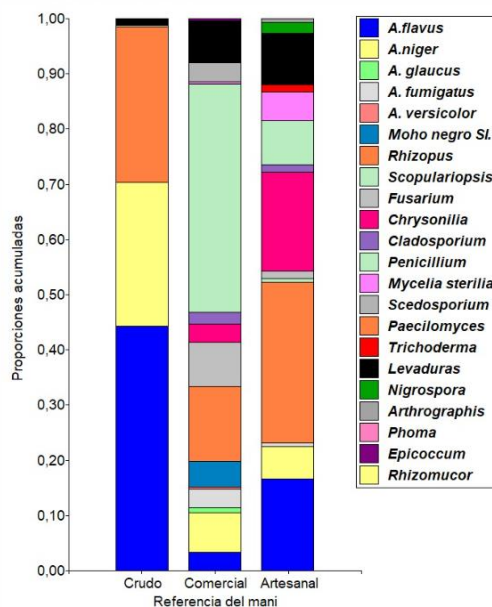
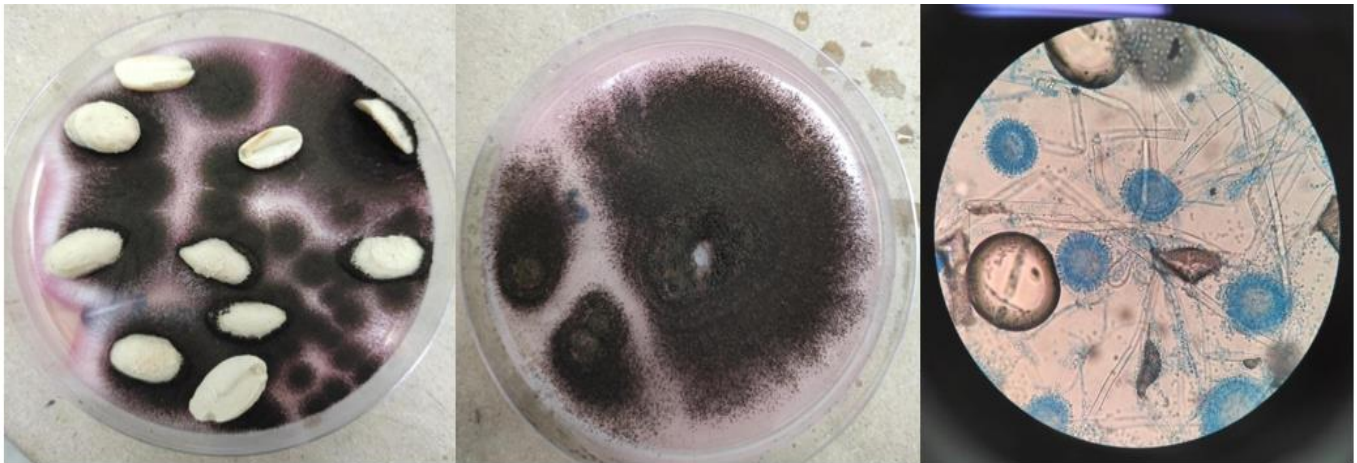


Figura 2. Gráfica de porcentajes acumulados de los aislamientos de hongos aislados de las diferentes referencias de maní. (Elaboración propia)

Los hongos micotoxigénicos de mayor relevancia encontrados en este estudio fueron *Aspergillus* sección *Flavi* (*A. flavus*), *Aspergillus* sección *Nigri* (*A. niger*), *Penicillium* spp y *Fusarium solani* (FSSC). Otros hongos como *Paecilomyces variotii* se presentó con una frecuencia muy baja. Hongos como *Rhizopus stolonifer* y *Scedosporium apiospermum*, son importantes patógenos responsables de enfermedades fúngicas invasivas. La identificación de las morfoespecies de *Aspergillus* depende de las diferencias en sus cabezas conidiales, así como la morfología y disposición de las conidias, *A. flavus* y *A. niger*, dos de los hongos aislados con mayor frecuencia en este estudio forman hifas ramificadas que producen cabezas conidiales. Cada cabeza conidial se compone de un conidióforo con una vesícula terminal, la cual porta capas de fiálides o esterigmas. Las fiálides alargadas generan columnas de conidias esféricas que constituyen los propágulos infecciosos a partir de la cual se desarrolla la fase micelial del hongo [42]. Ver figuras 3 y 4.



A B C
Figura 3. *Aspergillus* sección *Flavi* (*A. flavus*) A. plaqueo directo, B colonia en DRBC y C. observación microscópica



A B C
Figura 4. *Aspergillus* sección *Nigri* (*A. niger*) A. plaqueo directo, B colonia en DRBC y C. observación microscópica.

Al analizar los resultados de la presencia de *A. flavus* en las tres referencias de maní (crudo, artesanal e industrial) se encontró que hubo diferencias estadísticas significativas entre el maní crudo y las otras dos referencias con un p-valor de $<0,0001$ y un promedio de contaminación del maní crudo de 75,12%, mientras que no se presentaron diferencias estadísticas cuando se comparó la presencia de *A. flavus* en el maní artesanal e industrial con un promedio de 4,17% y 1,13% respectivamente. Al comparar la presencia de *A. flavus* en los diferentes muestreos se pudo establecer que hubo diferencias estadísticas significativas con p-valor de 0,0001 entre el muestreo 1 con un promedio de contaminación de *A. flavus* de 14,62% y el muestreo 2 y 5 con promedios de 33,15% y 34,62% respectivamente. Ver anexo 1 y figura 5. Al analizar los resultados de la presencia de *A. niger* en las tres referencias de maní (crudo, artesanal e industrial) se encontró que hubo diferencias estadísticas significativas entre el maní crudo y las otras dos referencias con un p-valor $<0,0001$ y un promedio de contaminación del maní crudo de 44,17%, mientras que no se presentaron diferencias estadísticas cuando se comparó la presencia de *A. niger* en el maní artesanal e industrial con un promedio de 1,5% y 2,83% respectivamente. Al comparar la presencia de *A. niger* en los diferentes muestreos se pudo establecer que hubo diferencias estadísticas significativas con p-valor $<0,0001$ entre el muestreo 1 con un promedio de contaminación de *A. niger* de -0,82% y el muestreo 5 y 2 con promedios de 29,94% y 32,29% respectivamente. Ver anexo 3 y figura 5.

Al analizar los resultados de la presencia de *R. stolonifer* en las tres referencias de maní (crudo, artesanal e industrial) se encontró que hubo diferencias estadísticas significativas entre el maní crudo y las otras dos referencias con un p-valor < 0,0001 y un promedio de contaminación del maní crudo de 47,86%, mientras que no se presentaron diferencias estadísticas cuando se comparó la presencia de *R. stolonifer* en el maní artesanal e industrial con un promedio de 7,33% y 5,33% respectivamente. Al comparar la presencia de *R. stolonifer* en los diferentes muestreos se pudo establecer que hubo diferencias estadísticas significativas con p- valor <0,0001 entre el muestreo 1 con un promedio de contaminación de *R. stolonifer* de 41,45% y el muestreo 6 con promedio de 2,92%. Ver anexo 2 y figura 5.

Al analizar los resultados de la presencia de *Penicillium* spp en las tres referencias de maní (crudo, artesanal e industrial) se encontró que hubo diferencias estadísticas significativas entre el maní crudo y las otras dos referencias con un p-valor de 0,0001 y un promedio de contaminación del maní industrial de 16,33%, mientras que no se presentaron diferencias estadísticas cuando se comparó la presencia de *Penicillium* spp en el maní crudo e artesanal con un promedio de 0,30% y 2,0% respectivamente. Al comparar la presencia de *Penicillium* spp en los diferentes muestreos se pudo establecer que hubo diferencias estadísticas significativas con p- valor de 0,0001 entre el muestreo 6 con un promedio de contaminación de *Penicillium* spp de 30,69% y el muestreo 2 con promedio de 0,69%. Ver anexo 5 y figura 5. Al analizar los resultados de la presencia del Complejo *Fusarium solani* (FSSC) en las tres referencias de maní (crudo, artesanal e industrial) se encontró que hubo diferencias estadísticas significativas entre el maní crudo y las otras dos referencias con un p-valor de 0,0250 y un promedio de contaminación del maní industrial de 3,17%, mientras que no se presentaron diferencias estadísticas cuando se comparó la presencia de *Fusarium solani* (FSSC) en el maní crudo y artesanal con un promedio de 0,30% y 2,0% respectivamente. Al comparar la presencia de *Fusarium solani* (FSSC) en los diferentes muestreos se pudo establecer que no hubo diferencias estadísticas significativas con un p-valor de 0,1147. Ver anexo 4 y figura 5.

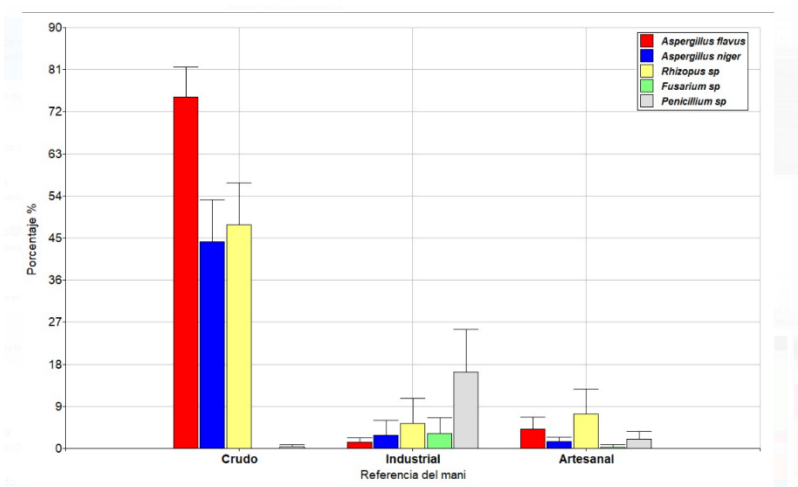


Figura 5. Diagrama de barras con intervalos de confianza del 95% de los principales hongos micotoxigénicos encontrados en el maní. (Elaboración propia)

Con relación al agar coco se encontró que 22 de las cepas de *Aspergillus* sección *Flavi* (*A. flavus*) dieron positiva para la prueba, presentando un pequeño halo fluorescente alrededor de la colonia cuando se examinaba visualmente en una lámpara de luz ultravioleta en una habitación oscura. Ver figura 6.

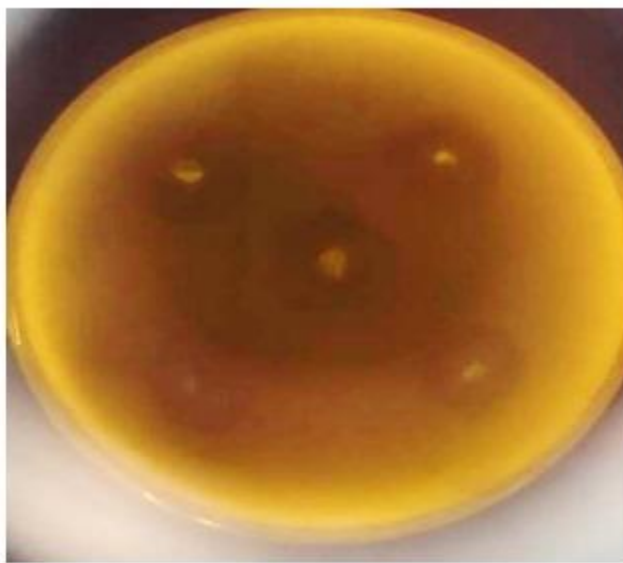


Figura 6. *Aspergillus* sección *Flavi* (*A. flavus*) en el medio de cultivo agar coco, se puede observar el halo alrededor de la colonia y la fluorescencia amarillo anaranjada.

DISCUSIÓN

Los hongos micotoxigénicos son ubicuos en la naturaleza, son en general organismos xerófilos, termófilos, lo que les permite contaminar los granos secos almacenados, como el maíz, el maní, los alimentos para animales hechos a base de soya, entre otros, afectando la salud humana y animal [43], [44], [45], [46], [47]. La incidencia de hongos micotoxigénicos a lo largo de la cadena productiva, es alta, en especial en países tropicales y subtropicales donde las condiciones climáticas sumado en algunas ocasiones las pobres condiciones de almacenamiento fomentan el crecimiento de estos hongos [48] [49]. La cadena productiva del maní va desde el cultivo, la recolección, la fabricación, los mayoristas, minoristas y consumidor final y se ha informado que la contaminación por estos hongos micotoxigénicos podría aparecer en cualquiera de los pasos de producción y comercialización de este producto [50], [51], [52], [53]. El maní es un alimento muy consumido en Colombia y se incluye en muchas de las preparaciones típicas de la zona andina por lo que se comercializa todos los días, tiene una gran demanda y hace parte de la canasta familiar. El gran consumo de este producto y la incidencia de hongos micotoxigénicos como *Aspergillus* sección *Flavi* (*A. flavus*), especies de *Penicillium* y *Fusarium* [54] a lo largo de la cadena de suministro es motivo de preocupación ya que las micotoxinas que producen son entre otras las aflatoxinas, la ocratoxina A las fumonisinas, la zearalenona, el deoxinivalenol, de éstas las aflatoxinas son las que se han encontrado con mayor frecuencia en las semillas de maní [55] y causan más problemas de salud, son potencialmente cancerígenas y más tóxicas [56], [57], [58]. Recientemente, se informó la presencia de *Aspergillus* sección *Flavi* (*A. flavus*) y la contaminación por aflatoxinas en la cadena de suministro de los países importadores de maní y se han realizado menos estudios con relación a esta temática de importación [59], [60] que los estudios realizados en los campos agrícolas donde se cultiva [61]. Este es un estudio preliminar donde sólo se ha llegado a identificar a nivel de morfoespecies, sin embargo, es importante llegar a una identificación precisa que incluya aspectos morfológicos, bioquímicos, moleculares por la similitud que hay entre las diferentes secciones del género *Aspergillus*, el hongo más frecuentemente aislado en este estudio [62][63][64]. La detección de micotoxinas fue uno de los obstáculos en este estudio, debido al costo de los análisis y el tener unos espacios con todas las medidas de bioseguridad y un analista capacitado para hacerlos, sin embargo se realizó una prueba cualitativa, como es la del agar coco, que permitió tener una ligera aproximación de la posible contaminación con aflatoxinas de las cepas de *A. flavus* halladas en este estudio ya que 22 de 31 cepas de *A. flavus* fueron positivas para esta prueba, sin embargo, en la actualidad se están implementando las pruebas rápidas de aflatoxinas y se mejoran cada día más para permitir a los distribuidores o compradores mayoristas realizar la prueba en el punto de compra (“in situ”) y de esta manera dejar de comprar maní contaminado y separarlo del que esté en buenas condiciones [65].

En este estudio se aislaron e identificaron un total de 22 morfoespecies en 204 muestras de maní. Durante cada uno de los muestreos realizados los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Rhizopus* fueron los que se presentaron con mayor frecuencia. Las esporas producidas por *R. stolonifer* soportan altas temperaturas y largos periodos de baja actividad de agua; [66] fue una de las morfoespecies más abundantes en este estudio, resultados que concuerdan con Ismail y colaboradores en el cual indica que *R. stolonifer* es uno de los *Zygomycetes* más comunes aislados de productos secos y almacenados, incluido el maní [67] y con Mphande quien reporta la presencia de *R. stolonifer* en muestras de maní en las cuales fueron los hongos más comunes y se encuentran contaminando el 98% de las muestras analizadas [68] *R. stolonifer* es, además, causante de la pudrición rápida y extensa de una amplia gama de huéspedes. La enfermedad causada por este hongo se conoce como pudrición blanda y la infección generalmente ocurre durante la cosecha, el almacenamiento e industrialización [69]. Debido a la amplia gama de huéspedes que *R. stolonifer* puede contaminar es importante controlar su crecimiento porque a pesar de no ser productor de micotoxinas, si está involucrado en enfermedades fúngicas invasivas, las cuales tienen una mortalidad muy alta entre 60 y 100% [70][71][72][73].

La morfoespecie *Aspergillus sección Flavi* (*A. flavus*) fue la más frecuente en los tres tipos de maní analizados, resultados que están de acuerdo con Setamou y colaboradores quienes aislaron *A. flavus* en semillas de maní y proponen que esta contaminación proviene en gran parte de la precosecha y que factores como la temperatura, el contenido de humedad y la humedad relativa son esenciales para el crecimiento de estos hongos [74][75], [76][77][78][79][80] de igual forma, Martins y colaboradores encontraron que esta morfoespecie es muy común en maní a lo largo de la cadena de producción, al igual que las aflatoxinas y explican que el paso más importante para reducir la actividad de agua en el maní es el secado, ya que previene el crecimiento de hongos y reduce la concentración de micotoxinas, sustancias que tienen demostrado poder patógeno tanto para animales como para el hombre [81][82]. Otra de las morfoespecies encontrada con mayor frecuencia fue *Aspergillus sección Nigri* (*A. niger*), se considera que esta especie contamina el maní durante todo el proceso de producción, especialmente en las etapas de siembra y crecimiento temprano [83], esta especie puede causar una pérdida del 5% de rendimiento hasta el 40% en semillas de maní, además se ha reportado que algunas cepas de esta especie producen micotoxinas [84][85] [86][87].

Otro de los hongos que se aislaron con frecuencia fueron especies de *Penicillium*, estudios realizados por Cotón y colaboradores demuestran que *Penicillium* es un hongo poco frecuente en frutos secos, pero si es un hongo que contamina en altos porcentajes los cultivos vegetales y las frutas cítricas y poco frecuente en el maní [88][89][90][91]. *Penicillium* tiene diferentes adaptaciones ecofisiológicas, entre éstas la tolerancia al frío y la baja actividad del agua [92]. Es un hongo filamentoso capaz de producir diferentes metabolitos secundarios y a menudo estos son utilizados como marcadores para la diferenciación de las diversas especies. [93][94]. Según estudios realizados por Mincuzzi y Rundberget, un gran porcentaje de las especies encontradas en productos alimenticios son psicotrópicas con una temperatura óptima de crecimiento de entre 22 y 30°C. Al realizar el análisis estadístico se observó que la media de *Penicillium* spp era de 16,33%, relativamente baja comparada con las especies de *Aspergillus*, sin embargo, se presentó con mayor frecuencia en el maní industrial y artesanal, lo que implica que estas micotoxinas pueden llegar fácilmente al consumidor final y con el tiempo poner en riesgo su salud [95][96].

El Complejo *Fusarium solani* tuvo una frecuencia mayor en el maní industrial, seguido por el maní artesanal; los porcentajes de contaminación fueron bajos en este estudio en comparación con otros estudios realizados por Mirabile y colaboradores, quienes encontraron que *F. solani* es una especie con alto potencial de contaminación que ataca los diversos cultivos de importancia agrícola entre estos el cultivo del maní. [97] Es una especie que crece frecuentemente en frutos como el maní o frutos similares alrededor del mundo. [98][99] Villarino [100] describen que más de cien especies de *Fusarium*, solo 12 de ellas pueden considerarse patógenas como es el caso de *Fusarium solani*. [101] *F. solani* es una especie con características cosmopolitas, filamentosa y considerada oportunista debido a su capacidad de crecer en temperaturas de hasta 37°C y presenta además una alta mortalidad en pacientes infectados con este hongo [102][103][104].

Pitt y colaboradores, afirman que los productos almacenados suelen estar contaminados con esporas de hongos ya que las esporas son ubicuas e imposibles de eliminar en el entorno de almacenamiento. La manipulación y el tratamiento cuidadoso de los productos almacenados no pueden excluir las esporas de hongos, pero evitan la germinación de las esporas y la infestación de los productos alimenticios por estos [105][106][107][108]. Sin embargo, debido a la naturaleza microscópica de los micelios y las esporas de los hongos, es posible que la contaminación no sea evidente [109]. El mayor número de aislamientos se obtuvo en el maní crudo pero la mayor

diversidad de microorganismos aislados se encontró en las semillas de maní artesanal e industrial, estos productos son de empresas con marca registrada y son comercializados a nivel nacional e internacional. Estas empresas deben cumplir con ciertos parámetros de calidad e inocuidad en sus productos. Por otra parte, el maní de procedencia artesanal se considera que es más susceptible a contaminación durante su procesamiento, esto debido a que los lugares donde se realiza su procesamiento son más pequeños y están expuestos a diversos microorganismos. Estudios realizados por Garcia y colaboradores [110] y Al ghamdi [111] proponen el uso del plaqueo directo como uno de los métodos preferidos para detectar y enumerar colonias de hongos en frutos secos entre estos el maní.[112][113]. Este proceso proporciona una medida eficaz de la calidad micológica, permitiendo la evaluación de la presencia potencial de hongos micotoxigénicos [114].

El conocimiento de los hongos micotoxigénicos y de las micotoxinas presentes en el maní en cualquiera de sus presentaciones (crudo, artesanal e industrial) es muy importante y debe involucrar a todas las partes interesadas desde el productor, los industriales del sector privado y artesanos que lo procesan, los importadores, el gobierno, los consumidores, además, se debe divulgar el conocimiento sobre las micotoxinas en la cadena de producción y los consumidores para garantizar que se apliquen todas las normas de seguridad biológica e industrial, buenas prácticas de manipulación e higiene que permitan un producto de alta calidad y reducir el riesgo potencial de exponerse a estos hongos micotoxigénicos y sus metabolitos secundarios, compuestos que pueden repercutir de manera importante en la salud humana y animal.

CONCLUSIONES

Se determinó la presencia de hongos con potencial micotoxigénico en maní procesado de manera artesanal, industrial y crudo en tiendas y supermercados de la ciudad de Santiago de Cali, Colombia. Se identificaron las morfoespecies de hongos aislados de las muestras de maní y se estableció el porcentaje de contaminación de las semillas. Los hongos aislados en el presente estudio fueron de diferentes géneros que son comunes en los cultivos de maní. *A. flavus* fue el predominante, mientras que otras especies fúngicas que no producen toxinas se produjeron en niveles relativamente altos. *Penicillium* es considerado un hongo de naturaleza micotoxigenica el cual fue identificado en gran proporción en muestras de maní industrial, lo cual es de gran importancia ya que su presencia indica riesgo para los consumidores. La contaminación de maní con hongos es importante en relación con la salud pública y el futuro comercio de exportación. Se recomienda realizar más estudios donde se pueda verificar la presencia de micotoxinas en las diferentes presentaciones de maní.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos a la Universidad Santiago de Cali por permitirnos realizar nuestra investigación, al grupo de investigación en micología por su apoyo, a nuestra directora de tesis Luz Dary Caicedo Bejarano y Codirector Carlos Martínez Garay por estar pendientes de nosotros y apoyarnos durante todo este proceso.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] P.J. Cotty, R.J. Garcia, "Influences of climate on aflatoxin producing fungi and aflatoxin contamination", *Int J Food Microbiol*, vol.119 1-2, pp 109-15, 2007.
- [2] R. Indiarito, B. Rezaharsamto, "The physical, chemical, and microbiological properties of peanuts during storage: A review", *Int. J. Sci. Technol. Res*, vol. 9, no 3, p. 1909-1913, 2020.
- [3] N.A. Akram, F.A. Shafiq, "Muhammad. Peanut (*Arachis hypogaea* L.): A prospective legume crop to offer multiple health benefits under changing climate", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 17, no 5, p. 1325-1338, 2018.
- [4] S.J. Kolte, *Diseases of Annual Edible Oilseed Crops: Volume I: Peanut Diseases*. CRC Press, 2019.
- [5] S. Tsehay, R. ortiz, M Geleta, E. Bekele. "Groundnut (Peanut) (*Arachis hypogaea*)". In: *Tanwar B., Goyal A. (eds) Oilseeds: Health Attributes and Food Applications*. Springer, Singapore. pp. 93-122, 2021.
- [6] H. Haerani, A. Apan, B. Basnet, "The climate-induced alteration of future geographic distribution of aflatoxin in peanut crops and its adaptation options". *Mitig Adapt Strateg Glob Change*, vol. 25, No 6, pp. 1149- 1175, 2020.
- [7] A.A. Mekdad, et al. "Impact of level of nitrogen fertilization and critical period for weed control in peanut (*Arachis hypogaea* L.)", *Agronomy*, vol. 11, no 5, p. 909, 2021.

- [8] H. Gao, et al. "Yield and nitrogen uptake of sole and intercropped maize and peanut in response to N fertilizer input". *Food and Energy Security*, vol. 9, no 1, p. e187, 2020.
- [9] S. Nitu, et al. "Comparative analysis of walnuts and peanuts oils". *Studia Universitatis Babes-Bolyai, Chemia*, no 3, 2019
- [10] A. Singhs, et al. "Functional uses of peanut (*Arachis hypogaea L.*) seed storage proteins", *Grain and Seed Proteins Functionality*, 2021.
- [11] W. Joyce, "Aflatoxin In Market Peanuts And Pre-Treatments Prior To Roasting To Reduce Levels". PhD Thesis. University of Nairobi, 2020.
- [12] T. Ondulla, "Nutritional chemistry of the peanut (*Arachis hypogaea*)". *Crit Rev Food Sci Nutr*. vol. 58, No 17, pp. 3042-3053, 2018.
- [13] J.P. Davis, L. L. Dean, "Peanut Composition, Flavor and Nutrition". Peanuts, *published by Elsevier Inc*, chapter 11, pp 289–345, 2016.
- [14] S. Padarath, S. Gerritsen, S. Mackay, "Nutritional aspects of commercially available complementary foods in New Zealand Supermarkets". *Nutrients*, vol. 12, no 10, p. 2980, 2020.
- [15] M. Popa, et al. "Identification of the myco-toxigenous fungi from peanut sedes (*Arachis hypogaea L.*) from stores". *Research Journal of Agricultural Science*, vol. 50, no 4, 2018.
- [16] C.C Onyeke. "Review of mycotoxins in foods in Nigeria" *Food Control*, pp. 107376, 2020.
- [17] C.N. Ezekiel, O.A. Oyedele, B. Kraak, K.I. Ayeni, M. Sulyok, J. Houbraken and R.K. Ezekiel, "Fungal Diversity and Mycotoxins in Low Moisture Content Ready-To-Eat Foods in Nigeria". *Frontiers in Microbiology*, vol.11, p. 615, 2020.
- [18] S.F. Taghizadeh, R. Rezaee, H. Badibostan, G. Karimi, "Aflatoxin B1 in walnuts: a probabilistic cancer risk assessment for Iranians" *Toxicological & Environmental Chemistry*, vol. 102, No 1, pp. 16, 2020.
- [19] R. Valencia-Quintana, et al. Environment Changes, Aflatoxins, and Health Issues, a Review. *Int. J. Environ Res Public Health*, vol. 17, no 21, p. 7850, 2020.
- [20] I. Lavakor, et al. "Biological control of aflatoxigenic fungi on peanut: For the pre-harvest approach", *Turkish Journal of Field Crops*, vol. 24, no 1, p. 21-27, 2019.
- [21] M.C. Adetunji, et al. "Phylogenetic diversity and prevalence of mycoflora in ready-to-eat supermarket and roadside-vended peanuts". *Mycologia*, vol. 113, no 1, p. 1-11, 2021.
- [22] C. Mutegi, M. Wagacha, J. Kimani, G. Otieno, R. Wanyama, K. Hell, M.E. Christie, "Incidence of aflatoxin in peanuts (*Arachis hypogaea Linnaeus*) from markets in Western, Nyanza and Nairobi Provinces of Kenya and related market traits", *Journal of Stored Products Research*, vol.52, pp. 118–127, 2013.
- [23] Ministerio de salud y protección social. Resolución No 4506 Por la cual establece los niveles máximos de contaminantes en los alimentos destinados al consumo humano y se dictan otras disposiciones. Min salud y protección social Colombia, 2013.
- [24] I. Pócsi, F. Giacometti, Á. Ambrus, A.F. Logrieco, "Aspergillus-Derived Mycotoxins in the Feed and Food Chain. *Frontiers in Microbiology*", *Frontiers in Microbiology*, vol. 11, 2020.
- [25] A.M. Kluczkowski, "Fungal and mycotoxin problems in the nut industry". *Current Opinion in Food Science*, vol. 29, p. 56-63, 2019.
- [26] X. Wang, et al. "Using disease-burden method to evaluate the strategies for reduction of aflatoxin exposure in peanuts". *Toxicology Letters*, vol. 314, p. 75-81, 2019.
- [27] E. Martey, P. Maxwell, D. Nicholas. "Improved storage technique and management of aflatoxin in peanut production: Evidence from Northern Ghana". *Sci Af*, vol. 8, pp. e00381, 2020.
- [28] S. Agriopoulou, E. Stamatelopoulou, T. Varzakas "Advances in Occurrence, Importance, and Mycotoxin Control Strategies: Prevention and Detoxification in Foods" *Foods*, vol.9, pp.137, 2020.
- [29] B. Jia, et al. "Detection of mycotoxins and toxigenic fungi in cereal grains using vibrational spectroscopic techniques: A review". *World Mycotoxin Journal*, vol. 13, no 2, p. 163-178, 2020.
- [30] A. Yakubu, A.Vyas, "Aflatoxin: Occurrence, Regulation, and Detection in Food and Feed", (eds) *Microbial Biotechnology: Basic Research and Applications*. Environmental and Microbial Biotechnology. Springer, Singapore 2020.

- [31] F.T. Mamo, et al. "Distribution of *Aspergillus* fungi and recent aflatoxin reports, health risks, and advances in developments of biological mitigation strategies in China". *Toxins*, vol. 13, no 10, p. 678, 2021.
- [32] C. Lascano, M. Peters, F. Holman, "Arachis pintoi in the humid tropics of Colombia: A forage legume success story", *Tropical Grasslands*, vol.39, 2005
- [33] Ministerio de agricultura. Área, producción y Rendimiento nacional por cultivo 2019, AgronetMinAgricultura. Disponible en: <https://www.agronet.gov.co> [fecha de consulta: 12 - Abril de 2022].
- [34] Treid, Importaciones y exportaciones colombianas de maní, (en línea) disponible en: treid.co [fecha de consulta: 5 - Abril de 2022].
- [35] V. Pereira, F. Schaitza, E. Gomez, "Developing countries and increased exports: contexts and challenges", *Área de Informação da Sede-Capítulo em livro científico (ALICE)*, 2021.
- [37] Agar dicloran rosa de bengala cloranfenicol, (En línea). disponible en: (https://www.merckmillipore.com/CO/es/product/DRBCDichloran-rose-bengal-chloramphenicol-agar,MDA_CHEM-100466) [fecha de consulta: 21 – Noviembre de 2020].
- [38] S.R. Ribeiro, et al. "Effect of controlled atmosphere, vacuum packaging and different temperatures on the growth of spoilage fungi in shelled pecan nuts during storage". *Food Control*, vol. 128, p. 108173, 2021.
- [39] D. Hoog, S. Gerrit, et al. Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS), 2019.
- [40] C. Geraldi,etal. Interactive key (Lucid) for identification of fungi in vegetable seeds. *SumPhytopathol*, vol. 46, No 1, pp. 14-19, 2020. https://keys.lucidcentral.org/keys/v3/seed_fungi/
- [41] E. Piontelli, Manual de microhongos filamentosos comunes I. Universidad de Valparaíso, 2011.
- [42] W. Garay, Procop, et al. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, Jones & Bartlett Publishers, 2020.
- [43] A.G. Arip, et al. "The use of coconut water (cocos nucifera l.) as alternative media to substitute Sabouraud Dextrose Agar (SDA) for the growth of aspergillus flavus", En *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing, p. 012061, 2021.
- [44] D. Yazdani, M. A. Zainal, Y. H. Tan, S. Kamaruzaman, " Evaluation of the detection techniques of toxigenic *Aspergillus* isolates", *African Journal of Biotechnology*, Vol. 9 No(45), pp. 7654-7659,2010.
- [45] I. arc "Aflatoxins," in some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins," in Proceedings of the IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, (Lyon: International Agency for Research on Cancer), 245–395. 1993. doi: 10.1002/food.19940380335.
- [46] E.Y. Ono, et al. "Mycotoxins in Nuts and Seeds". En *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. Academic Press, p. 255-270, 2020.
- [47] J. M. Wagacha, J. W. Muthomi, "Mycotoxin problem in Africa: current status, implications to food safety and health and possible management strategies", *J. Food Microbiol.* vol.1–12, pp.124, 2008 doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.01.008
- [48] D. Dhanasekaran, S. Shanmugapriya, N. Thajuddin, A. Panneerselvam, "Aflatoxins and aflatoxicosis in human and animals," in *Aflatoxins - Biochemistry and Molecular Biology*, ed. R. G. Guevara-González, (Croatia: InTech), 221–254, 2011.
- [40] U.P. Sarma, P. Bhetaria, P. Devi, A. Varma, "Aflatoxins: implications on health". *Indian J. Clin. Biochem.* 32, 124–133, 2017. doi: 10.1007/s12291-017-0649-2.
- [50] S.F. Mexis, A. V Badeka, K. A Riganakos, K. X Karakostas, M. G. Kontominas, "Effect of packaging and storage conditions on quality of shelled walnuts". *Food Control* 20, 743–751. 2009.
- [51] M.V. Christopoulos, E. Tsantili, "Effects of temperature and packaging atmosphere on total antioxidants and colour of walnut (*Juglans regia* L.) kernels during storage", *Scientia Horticulturae –Amsterdam* 131, 49–57, 2011.
- [52] F. Waliyar, M. Osiru, M.B. Ntare, B.R. Kumar, K.H. Sudini, A. Traore, "Post-harvest management of aflatoxin contamination in groundnut", *World Mycotoxin J.* 8, 245–252, 2015a doi: 10.3920/WMJ2014.1766
- [53] J. W. Dorner, Management and prevention of mycotoxins in peanuts. *Food Addit. Contam. Part A* 25, 203–208, 2008. doi: 10.1080/02652030701658357
- [54] W.J. Florkowski, S. Kolavalli, "Strategies to Control Aflatoxin in groundnut Value Chains", 2014. Available at: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.570.1023&rep=rep1&type=pdf> (accessed mayo 31, 2022).

- [55] M.K. Pandey, R. Kumar, A. K. Pandey, P. Soni, S. S. Gangurde, H. K. Sudini, "Mitigating aflatoxin contamination in groundnut through a combination of genetic resistance and post-harvest management practices". *Toxins* 11, No.1–21, 2019. doi: 10.3390/toxins11060315
- [56] N. Abo, A. Fatma, A. Sara, M. Ahmed, "Aspergillus mycotoxins: Potential as biocontrol agents. En Agriculturally Important Fungi for Sustainable Agriculture" *Springer, Cham*, p. 217-237, 2020.
- [57] P. Julius, S. Serumaga, et al. "Contaminación del maní (*Arachis hypogaea* L.) con comunidades de *Aspergillus* sección *Flavi* y aflatoxina en la etapa posterior a la cosecha", *Control de alimentos*, vol. 128, pág. 108150, 2021.
- [58] L. Afsah-Hejri, S. Jinap, P. Hajeb, S. Radu, S. Shakibazadeh, *A review on mycotoxins in food and feed: Malaysia case study*. Compr. Rev. Food Sci. Food Safety 12, 629–651, 2013. doi: 10.1111/1541-4337.12029
- [59] C. P. Wild, P. C. Turner, "The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions", *Mutagenesis* vol.17, pp.471–481, 2002. doi: 10.1093/mutage/17.6.471
- [60] K. A. Bediako, et al. "Prevalence of fungi and aflatoxin contamination in stored groundnut in Ghana". *Food control*, vol. 104, p. 152-156, 2019.
- [61] N. Guezlane-tebibel, N. Bouras, S. Mokrane, T. Benayad, F. Mathieu, "Aflatoxigenic strains of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from marketed peanuts (*Arachis hypogaea*) in Algiers (Algeria)", *Ann. Microbiol.* 63, 295–305, 2013. doi: 10.1007/s13213-012-0473-0
- [62] M. Norlia, M.A. Nor-Khaizura, J. Selamat, F. Abu Bakar, S. Radu, C.K. Chin, "Evaluation of aflatoxins and *Aspergillus* sp. contamination in raw peanuts and peanut-based products along the supply chain in Malaysia", *Food Addit. Contam. Part A* 23, 1–16. 2018. doi: 10.1080/19440049.2018.1488276
- [63] C. Zhang, J.N Selvaraj, Q. Yang, Y. Liu, "A survey of aflatoxin-producing *Aspergillus* sp. from peanut field soils in four agroecological zones of China", *Toxins* 9, 1–14, 2017. doi: 10.3390/toxins9010040
- [64] J.C. Frisvad, V. Hubka, C.N. Ezekiel, S.B. Hong, A. Nováková, A.J. Chen, "Taxonomy of *Aspergillus* section *Flavi* and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins", *Stud. Mycol.* 93, 1–63, 2019. doi: 10.1016/j.simyco.2018.06.001
- [65] S.K. Dyer, S. Mccammon, "Detection of toxigenic isolates of *Aspergillus flavus* and related species on coconut cream agar", *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 76, no 1, p. 75-78, 1994.
- [66] M.A. Ismail, et al. "Biodiversity of mycobiota in peanut seeds, corn and wheat grains with special reference to their aflatoxigenic ability", *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 2021, p. 314-319, 2021.
- [67] F. A. Mphande, B. A. Siame, J. E. Taylor, "Fungi, Aflatoxins, and Cyclopiazonic Acid Associated with Peanut Retailing in Botswana" *Journal of Food Protection*, Vol. 67, No. 1, 2004, Pages 96–102 25 July 2003.
- [68] M.G. Velazquez-del valle, et al. "Estrategias de Control de *Rhizopus stolonifer* Ehrenb". (Ex Fr.) Lind, Agente Causal de Pudriciones Postcosecha en Productos Agrícolas. *Rev. mex. fitopatol* [online] vol.26, No.1, pp.49-55. ISSN 2007-8080, 2008.
- [69] G.I. Estrada Salazar, M.C. Ramírez Galeano, *Micología general*. Universidad Católica. Manizales. 2019. Pp. 347. [file:///D:/docs/Descargas/Micologia_general%20\(2\).pd](file:///D:/docs/Descargas/Micologia_general%20(2).pd)
- [70] A. Emmott, *Technical Report: Value Chain Approach - Aflatoxin (Groundnuts) Final Report*. Southern Africa: USAID, 2012.
- [71] S. Bautista-Baños, E. Bosquez-Molina, L.L. Barrera-Necha, Chapter 1 - *Rhizopus stolonifer* (Soft Rot), Editor(s): Silvia Bautista-Baños, Postharvest Decay, Academic Press, 2014, Pages 1-44, ISBN9780124115521, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411552-1.00001->
- [72] D. Camara Lopes, "Mucormicosis rino-órbito-cerebral: casuística en un hospital de tercer nivel en México, en 3 años" *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*, vol. 44, no 1, p. 23-29, 2022.
- [73] E. Salano, R. Mulwa, M. Obonyo, "Los genotipos de maní (*Arachis hypogaea*) regulan la acumulación de aflatoxina tras la infección: implicaciones para la mitigación de aflatoxina". En Conferencia Internacional de la Universidad de Egerton, 2022.
- [74] M. Setamou, K. F. Cardwell, F. Schulthess "Hell *Aspergillus flavus* Infection and Aflatoxin Contamination of Pre-harvest Maize in Benin". *APSnet* 81: 1323-1327, 1997.
- [75] L. VARGAS, A. Mejía. "Zigomicosis En Pared Abdominal Por *Apophysomyces Elegans*, En Paciente Inmunocompetente Posterior A Accidente De Tránsito". *Archivos de Medicina*, vol. 18, no 1, p. 1-5, 2022

- [76] F. Waliyar., V.C. Umeh, A. Traore, M. Osiru, B.R. Ntare, B. Diarra, et al. "Prevalencia y distribución de la contaminación por aflatoxinas en el cacahuete (*Arachis hypogaea* L.) en Malí". *África occidental. Cultivo Prot.* 70 1–7. 10.1016/j.cropro.2014.12.007, 2015b.
- [77] X. Manlin et al. "Proteome-Wide Analysis of Lysine 2-Hydroxyisobutyrylation in *Aspergillus niger* in Peanuts." *Frontiers in microbiology* vol. 12 719337. 18 Aug. 2021.
- [78] V. Vujanovic, W. Smoragiewicz, K. Krzysztyniak, "Determinación del nicho ecológico de hongos aerotransportados como una de las posibilidades para la evaluación indirecta del riesgo de micotoxinas en el aire interior". *Toxicología Ambiental: una Revista Internacional.* 16(1):1–8, 2001.
- [70] J.I. Dan, "Study on *Aspergillus flavus* infection in maize and peanut". *Chinese Journal Of Oil Crop Sciences*, vol. 44, no 2, p. 442, 2022.
- [80] J. Choi, et al. "Diversity and Mycotoxin Production of *Aspergillus flavus* in Stored Peanut", *The Korean Journal of Mycology*, vol. 49, no 3, p. 303-313, 2022.
- [81] L. M. Martins, A. S. Sant'Ana, M. H. P. Fungaro, J. J. Silva, M. D. Nascimento, J. C. Frisvad, et al. "La biodiversidad de *Aspergillus* sección *Flavi* y aflatoxinas en la cadena de producción de maní brasileño", *Alimentos Res. Int.* 94 101–107. 10.1016/j.foodres.2017.02.006, 2017.
- [82] H.P. Gajera, D.N. Vakharia, "Production of lytic enzymes by *Trichoderma* isolates during in vitro antagonism with *Aspergillus niger*, the causal agent of collar rot of peanuts", *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 43(1), pp. 43-52, 2012.
- [83] L. Chia-Min, et al. "The application of novel rotary plasma jets to inhibit the aflatoxin-producing *Aspergillus flavus* and the spoilage fungus, *Aspergillus niger* on peanuts", *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 78, pp. 102994, 2022.
- [84] T.H. Quang et al. "Secondary metabolites from a peanut-associated fungus *Aspergillus niger* IMBC-NMTP01 with cytotoxic, anti-inflammatory, and antimicrobial activities". *Natural Product Research*, vol. 36, No 5, pp. 1215-1223, 2022.
- [85] S.E. Adjou, E. Dahouenon-Ahoussi, M.M. Soumanou, "Investigations on the mycoflora and processing effects on the nutritional quality of peanut (*Arachis hypogaea* L. var. TS 32-1). *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 2021, pp. 1025-1039, 2021.
- [86] F. A. Saif, et al. "Identification of *Penicillium* species of fruits using morphology and spectroscopic methods", *Journal of Physics: Conference Series.* IOP Publishing, pp. 012019, 2020.
- [87] I. Vico, et al. "First report of *Penicillium crustosum* causing blue mold on stored apple fruit in Serbia", *Plant disease*, vol. 98, No 10, pp. 1430-1430, 2014.
- [88] M. Coton, et al. "Production and migration of ochratoxin A and citrinin in Comté cheese by an isolate of *Penicillium verrucosum* selected among *Penicillium* spp. mycotoxin producers in YES medium", *Food microbiology*, vol. 82, pp. 551-559, 2019.
- [89] G. Perrone, A. Susca, "*Penicillium* species and their associated mycotoxins", *Mycotoxigenic fungi*, pp. 107-119, 2017.
- [90] W. Habib, et al. "Occurrence and Characterization of *Penicillium* Species Isolated from Post-Harvest Apples in Lebanon". *Toxins*, vol. 13, No 10, pp. 730, 2021.
- [91] P. Ramanjineyulu, et al. "Incidence of pod rot of Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) in Chittoor and Anantapur districts of Andhra Pradesh", *Annals of Plant Protection Sciences*, vol. 26, No 2, pp. 328-331, 2018.
- [92] E.M. Embaby, G. Abdel, M. Mona, "Detection of fungi and aflatoxins contaminated peanut samples (*Arachis hypogaea* L.)", *Journal of Agricultural Technology*, vol. 10, No 2, pp. 423-437, 2014.
- [93] M. Khandaker, et al. "Detection of mycoflora and mycotoxin in raw peanut *Arachis hypogaea* L. kernels in Bangladesh". *Bangladesh Journal of Botany*, vol. 47, No 4, pp. 1001-1005, 2018.
- [94] S. Prencipe, et al. "Several species of *Penicillium* isolated from chestnut flour processing are pathogenic on fresh chestnuts and produce mycotoxins", *Food microbiology*, vol. 76, pp. 396-404, 2018.
- [95] A. Mincuzzi, et al. "Characterization of *Penicillium* ss and *Aspergillus* sect. *nigri* causing postharvest rots of pomegranate fruit in Southern Italy", *International journal of food microbiology*, vol. 314, pp. 108389, 2020.
- [96] T. Rundberget, I. Skaar, A. FLÅØYEN, "The presence of *Penicillium* and *Penicillium* mycotoxins in food wastes", *International Journal of Food Microbiology*, vol. 90, No 2, pp. 181-188, 2004.

- [97] G. Mirabile, et al. "Fungal Contaminants and Mycotoxins in Nuts", *Nuts and Nut Products in Human Health and Nutrition*, vol. 70, pp. 63, 2021.
- [98] S. Gibert, et al. "First Report of *Fusarium avenaceum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium redolens*, and *Fusarium solani* Causing Root Rot in Pea in France", *Plant Disease*, vol. 106, No 4, pp. 1297, 2022.
- [99] R. Y. Wang, et al. "Primer informe de *Fusarium solani* que causa la pudrición de la raíz y el cancro del tallo por *Fusarium* en las raíces de almacenamiento de la batata en China", *Enfermedad de las plantas*, vol. 98, No 1, pág. 160-160, 2014.
- [100] M. Villarino, et al. "Characterization of *Fusarium solani* populations associated with Spanish strawberry crops", *Plant disease*, vol. 103, No 8, pp. 1974-1982, 2019.
- [101] L. Wei, et al. "Identification of dominant fungal contamination of walnut in Northwestern China and effects of storage conditions on walnut kernels", *Scientia Horticulturae*, vol. 264, pp. 109141, 2020.
- [102] V. Mamali, et al. "Necrotizing Skin and Soft Tissue Infection Due to *Syncephalastrum* Species and *Fusarium solani* Species Complex Following Open Tibia Fracture". *Diagnostics*, vol. 12, No 5, pp. 1163, 2022.
- [103] H.D. Bentubo, et al. "Outbreak due to *Fusarium solani* on a Brazilian ostrich farm", *Research, Society and Development*, vol. 11, No 2, pp. e11411225499-e11411225499, 2022.
- [104] J. Dijksterhuis, "The fungal spore and food spoilage", *Current Opinion in Food Science* vol. 17, pp. 68-74, 2017.
- [105] J.I. Pitt, A. D. Hocking, "The ecology of fungal food spoilage". *En Fungi and food spoilage*. Springer, Boston, MA, pp. 3-9, 2009.
- [106] A. B. Snyder, R. W. Worobo, "Fungal spoilage in food processing", *Journal of food protection*, vol. 81, No 6, pp. 1035-1040, 2018.
- [107] J. Dijksterhuis, "Fungal spores: Highly variable and stress-resistant vehicles for distribution and spoilage", *Food microbiology*, vol. 81, pp. 2-11, 2019.
- [108] C.A. Pinto, et al. "Effects of high-pressure processing on fungi spores: Factors affecting spore germination and inactivation and impact on ultrastructure", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 19, No 2, pp. 553-573, 2020.
- [109] J. Amza, "Seed borne fungi; food spoilage, negative impact and their management: A review", *Seed*, vol. 81, 2018.
- [110] M. V. Garcia, C. A. Mallmann, C. M. Venturini, "Aflatoxigenic and ochratoxigenic fungi and their mycotoxins in spices marketed in Brazil". *Food Research International*, vol. 106, pp. 136-140, 2018.
- [111] A. Ghamdi, L. Fatimah, F. Bokhari, M. M. Aly, "Toxigenic fungi associated with dried Fruits and fruit-based products collected from Jeddah province", *Journal Of Pharmacy And Biological Sciences*, vol. 14, No 1, pp. 10-20, 2019.
- [112] P.M. Etaware, "Stereotyping fungi affecting stored melon seeds within local markets in Lagos, Nigeria", *Journal of Applied Microbiological Research*, vol. 2, pp. 14-20, 2019.
- [113] W. Qifang, X. Lijuan, X. Huirong, "Determination of toxigenic fungi and aflatoxins in nuts and dried fruits using imaging and spectroscopic techniques". *Food chemistry*, vol. 252, pp. 228-242, 2018.
- [114] T. H. Hamasalih, N.H. Rasul, "Effect of edible coatings on some physicochemical properties and fungi growth during different storage periods of pistachio nuts". *Sciences*, vol. 18, No 2, p. E1-E13, 2020.

ANEXOS

Anexo 1

% C/ A.Flavus

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% C/ A.Flavus	204	0,80	0,79	57,20

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	270145,60	7	38592,23	111,35	<0,0001
Referencia del mani	259024,03	2	129512,02	373,69	<0,0001
Muestreo	11121,57	5	2224,31	6,42	<0,0001
Error	67928,91	196	346,58		
Total	338074,51	203			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,58851

Error: 346,5761 gl: 196

Referencia del mani Medias n E.E.

Comercial	1,33	60	2,40	A
Artesanal	4,17	60	2,40	A
Crudo	75,12	84	2,03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=12,89196

Error: 346,5761 gl: 196

Muestreo Medias n E.E.

1	14,62	34	3,20	A
6	19,91	34	3,20	A B
3	26,68	34	3,20	A B C
4	32,27	34	3,20	B C
2	33,15	34	3,20	C
5	34,62	34	3,20	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Anexo 2

% C/ Rhizopus

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% C/ Rhizopus	204	0,44	0,42	119,66

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	121315,13	7	17330,73	22,05	<0,0001
Referencia del mani	85317,09	2	42658,54	54,26	<0,0001
Muestreo	35998,04	5	7199,61	9,16	<0,0001
Error	154082,91	196	786,14		
Total	275398,04	203			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=11,42895

Error: 786,1373 gl: 196

Referencia del mani Medias n E.E.

Comercial	5,33	60	3,62	A
Artesanal	7,33	60	3,62	A
Crudo	47,86	84	3,06	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=19,41640

Error: 786,1373 gl: 196

Muestreo Medias n E.E.

6	2,92	34	4,82	A
4	7,63	34	4,82	A
3	16,15	34	4,82	A B
5	21,15	34	4,82	A B
2	31,74	34	4,82	B C
1	41,45	34	4,82	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Anexo 3

% C/ A.niger

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% C/ A.niger	204	0,53	0,51	124,26

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	127229,90	7	18175,70	31,08	<0,0001
Referencia del mani	87215,69	2	43607,84	74,58	<0,0001
Muestreo	40014,22	5	8002,84	13,69	<0,0001
Error	114610,78	196	584,75		
Total	241840,69	203			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=9,85693

Error: 584,7489 gl: 196

Referencia del mani Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.
Artesanal	1,50	60	3,12 A
Comercial	2,83	60	3,12 A
Crudo	44,17	84	2,64 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=16,74574

Error: 584,7489 gl: 196

Muestreo Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.
6	-1,82	34	4,16 A
4	-0,06	34	4,16 A
1	10,24	34	4,16 A B
3	26,41	34	4,16 B C
5	29,94	34	4,16 C
2	32,29	34	4,16 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Anexo 4

% C/ Fusarium

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% C/ Fusarium	204	0,08	0,04	701,56

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	861,27	7	123,04	2,36	0,0246
Referencia del mani	392,16	2	196,08	3,76	0,0250
Muestreo	469,12	5	93,82	1,80	0,1147
Error	10222,55	196	52,16		
Total	11083,82	203			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,94380

Error: 52,1559 gl: 196

Referencia del mani Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.
Crudo	0,00	84	0,79 A
Artesanal	0,33	60	0,93 A B
Comercial	3,17	60	0,93 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,00116

Error: 52,1559 gl: 196

Muestreo Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.
3	0,14	34	1,24 A
1	0,14	34	1,24 A
6	0,14	34	1,24 A
2	0,43	34	1,24 A
5	1,90	34	1,24 A
4	4,25	34	1,24 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Anexo 5

C/ Penicullium

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
C/ Penicullium	204	0,40	0,38	295,20

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	34635,81	7	4947,97	18,51	<0,0001
Referencia del mani	9998,07	2	4999,03	18,70	<0,0001
Muestreo	24637,75	5	4927,55	18,43	<0,0001
Error	52404,87	196	267,37		
Total	87040,69	203			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=6,66522

Error: 267,3718 gl: 196

Referencia del mani	Medias	n	E.E.
Crudo	0,36	84	1,78 A
Artisanal	2,00	60	2,11 A
Comercial	16,33	60	2,11 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=11,32341

Error: 267,3718 gl: 196

Muestreo	Medias	n	E.E.
1	0,69	34	2,81 A
2	0,69	34	2,81 A
3	0,69	34	2,81 A
4	0,99	34	2,81 A
5	3,63	34	2,81 A
6	30,69	34	2,81 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)