CALIDAD FITOSANITARIA Y DETERMINACION DE AFLATOXINAS EN GRANOS DE SORGO (Sorghum *bicolor* (L.) Moench), EN ALMACEN Y CAMPO, 2005

Yanet Gutiérrez Gaitán[1], Martha Zamora[1], Henry Pitre[2], Roger Matamoros Vilchez[3], Oliver Rugama M[3]

[1] Docente-Investigador-Universidad Nacional Agraria (UNA), Managua, Nicaragua. km 12 ½ Carretera Norte. Apto. 453 E-mail: yanet.gutierrez@una.edu.ni, martha.zamora@una.edu.ni. Telfax 263-260

[2] Mississippi State University, Mississippi State, M S39762,USA HPitre@entomology.msstate.edu

[3] Universidad Nacional Agraria (UNA), Managua, Nicaragua. km 12 ½ Carretera Norte. Apto. 453

RESUMEN

Una de la problemática de la producción de sorgo en Nicaragua es el deficiente manejo postcosecha del grano, como consecuencia es afectado por diferentes plagas que dañan su calidad por insectos, hongos y bacterias. Algunos hongos que afectan el grano en campo y almacén son productores de diferentes micotoxinas, que ocasionan micotoxicosis (intoxicaciones), dañinas para la salud humana y animal. El objetivo del estudio fue determinar la calidad fitosanitaria y presencia de niveles de aflatoxinas en granos almacenados. Se colectaron muestras en empresas e industrias almacenadoras y de campo. A cada una se le realizó análisis organoléptico (olor, temperatura, apariencia); físico (impurezas), entomológico, patológico (hongos y bacterias) y análisis de aflatoxinas. Las plagas primarias insectiles encontradas en los granos en almacén son: el pequeño barrenador del grano (*Rhizopertha dominica* (F.) y el gorgojo del arroz (*Sitophillus oryzae* (L.)). El gorgojo plano de los granos (*Cryptolestes* sp.), predominó en todas las muestras de granos de almacén, considerado plaga secundaria. En granos de campo el insecto que se encontró en mayor numero fue el telarañero del sorgo (*Celama sorghiella* (Riley)). Los géneros de hongos *Fusarium* spp, *Helminthosporium* sp y las bacterias *Pseudomonas syringae* van Hall y *Bacillus megaterium* (De Bary) ocasionaron los mas altos porcentajes de infección en granos de almacén y

ABSTRACT

A deficient post harvest management of the grain is one of the sorghum production problems in Nicaragua. As a consequence the sorghum is affected by different pests including insects, fungi and bacteria that damage its grain quality. Some fungi that affect the grain in field and storage produce different mycotoxins that can cause mycotoxicosis (poisonings) that are dangerous to human and animal health. The objective of this study was to determine the phytosanitary quality and concentration levels of aflatoxins in stored grains. Grain samples were collected from companies dealing with sorghum grain storages, industrialization, and in the field. Organoleptic analyses which include odor, temperature, appearance, was conducted for each sample. Physic analysis which included impurities, and insect pests which included storage insects were made. Also, a pathologic analysis which included fungi and bacteria was carried out. A test for aflatoxins determination was conducted using the mini-columns method. The primary insect pests found in storage grains include: lesser grain borer (Rhyzopertha dominica (F.) and the rice weevil (Sitophillus oryzae (L). The secondary pest, the flat weevil of grains (Cryptolestes sp.), was the most frequent insect collected from the storage. In sorghum grains collected from the field the most prevalent insect found was the sorghum webworm (Celama sorghiella (Riley). The fungi Fusarium spp, Hel-

campo. Se identificaron siete especies de *Aspergillus* de las cuales *A. flavus* Link y *A. parasiticus* Speare se asocian a la producción de aflatoxinas, sin embargo este análisis resultó por debajo de 20 partes por billón (ppb).
Palabras claves: Calidad fitosanitaria /granos sorgo/, aflatoxinas, Nicaragua

minthosporium sp., and the bacteria Pseudomonas syringae van Hall, and Bacillus megaterium (De Bary) caused the highest percentage of infection to grains in storage and in the field. Seven species of Aspergillus were identified. A. flavus Link and A. parasiticus Speare are associated with the production of aflatoxins. However, the determined aflatoxin concentration was below 20 parts per billion (ppb).
Kit words Phytosanitary quality/ sorghum grain / aflatoxins/ Nicaragua.

En Nicaragua, el cultivo del sorgo, ocupa el 17% del área sembrada de los granos básicos, considerado como un cultivo alimenticio de importancia; sustituto del maíz en la alimentación humana y animal. El 46% es utilizado en la industria y el 54% para la alimentación humana (http//WWW.MAG-FOR.com.ni).

Durante el almacenamiento, los granos son dañados principalmente por insectos, y hongos los cuales dañan su calidad. Las especies de hongos *Aspergillus flavus* Links y *A parasiticus* Speare son las que mayormente se asocia a la producción de sustancias llamadas micotoxinas (aflatoxinas), las que han sido mayormente estudiadas por su importancia en la contaminación de los granos, ya que son tóxicas para el hombre y los animales. Estas son carcinogénicas, mutagénicas y teratogénicas, siendo el hígado uno de los órganos mas afectados (Moreno, 1988).

Entre las problemáticas que señalan los productores de sorgo en Nicaragua, esta la comercialización (bajo precio del maíz amarillo importado); presencia de aflatoxinas y las exigencias de los compradores al solicitar que los granos no sobrepasen más del 2% de infección por hongos en 100 g al observarlo a través de luz ultravioleta[1].

En la literatura mundial el tema, ha sido tratado con mucha importancia, sin embargo, en Nicaragua, existen pocos antecedentes sobre este tópico. Altamirano *et al,* (1982), realizó una investigación sobre contaminación por micotoxinas al grano de sorgo Nicaragüense y encontró alto contenido de aflatoxinas en las muestras.

En el contexto del marco de investigaciones desarrolladas a través del Programa Internacional de Investigación en Sorgo y Mijo (INTSORMIL) y la Universidad Nacional Agraria (UNA), se consideró importante realizar este estudio asociado a los problemas de postcosecha, con el objetivo de generar información acerca de la calidad fitosanitaria y determinación de aflatoxinas en granos de sorgo

MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó en el periodo de abril a noviembre, 2005. La colecta de muestras de granos se realizó en cinco empresas e industrias almacenadoras y muestras de granos de campo en finca de productores (Tabla 1).

El muestreo en granos almacenados en silos, se tomó en cinco puntos de muestreo y uno de los puntos se ubicó en el centro del silo a un metro de profundidad, a través de un muestreador compuesto o sonda de alvéolo (FAO, 1995). La muestra fue homogenizada por medio de un homogenizador divisor tipo Boerner. Para detectar impurezas y materias extrañas se extrajo una muestra limpia de 1000 g, las que se pasaron por panas cribas de orificio triangular de 2.5/64 (1mm); que es el especifico para granos de sorgo. Se tomaron datos de la humedad y temperatura del grano.

El análisis fitosanitario se realizó en los laboratorios de Micología, Microbiología y Museo Entomológico de la Universidad Nacional Agraria (UNA). El análisis de aflatoxinas se realizó en laboratorios Medico-Químicos Dr. Bengoechea.

Para cada análisis se tomaron 400 granos al azar de la muestra limpia de 1 kg según manual de la Asociación Internacional de Análisis de Semilla. (ISTA, 1996).

El análisis entomológico se realizó en dos etapas; durante la evaluación de impurezas, en la cual se cuantificó el número de insectos vivos y muertos, que se observaron en la pana ciega, y en la muestra de 400 granos, en la cual se contó el número de insectos adultos y estados inmaduros.

Para el análisis de hongos se utilizó el método de cámara húmeda. Se identificaron género(s) de hongo(s) usando claves taxonómicas (Barnett and Hunter, 1998). El análisis de bacterias se realizó con el método de siembra en medio de cultivo de Agar nutritivo (AN). (Schaad, 1980). Para ambos análisis se calculó el porcentaje de granos infectados. El análisis descriptivo de la información se basó en la encuesta realizada al momento de muestreo y resultados de análisis de laboratorio.

Para la identificación de especies de *Aspergillus* se sembró en medio de cultivo específico (Czapek-agar) Samson y Reenen-Hoekstra (1988).

El análisis de aflatoxinas se realizó mediante el método de minicolumnas propuesta por Holaday y Velasco (HV), el cual determina la presencia y la cantidad de aflatoxinas. Los niveles permisibles de aflatoxinas en granos de consumo humano y animal están en un máximo de 20 partes por billón (ppb); equivalente a mg/kg o mg/ton (FAO 1993).

RESULTADOS Y DISCUSION

La calidad fitosanitaria del grano de sorgo almacenado es afectada por las impurezas presentes, condiciones de humedad y temperatura inadecuada; además de períodos largos de almacenamiento; lo que inciden en el desarrollo y reproducción de insectos, hongos y bacterias. Las impurezas representan una contaminación y constituye una amenaza, para la buena conservación de los granos (Ramírez, 1981). Un período de almacenamiento de 60 días se considera adecuado, para granos de sorgo, condición que no se presentó en la mayoría de las muestras[2] (Tabla 1).

La humedad y temperatura óptima para granos de sorgo en almacén es 12% y 25-30 º C respectivamente, bajo estas condiciones se considera un almacenamiento seguro y no

1 Vargas, F. 2006. Comunicación personal. Asociación Nacional de Productores de Sorgo (ANPROSOR). Managua, Nicaragua.

corren riesgo de deterioro por hongos (Compton, 1990) y (Christensen, 1962). Sin embargo la condición de humedad principalmente del grano de 15 % favoreció el desarrollo de hongos y bacterias en granos de almacén (Tabla 1).

Insectos en granos de almacén y campo. El insecto pequeño barrenador de los granos *Rhizopertha dominica* (F.); considerado plaga primaria, se encontró en mayor número afectando los granos (Foto 1). La larva y el adulto de este insecto tienen preferencia por los cereales atacando granos enteros y sanos alimentándose del interior de estos, pudiendo sobrevivir y multiplicarse en granos de cereales con menos de 9 % de contenido humedad (Arias y Dell´´Orto, 1985). Otro insecto identificado considerado también plaga primaria fue el gorgojo del arroz *Sitophilus oryzae* (L.); el cual se encontró afectando granos en almacén y en todas las muestras colectas de campo en épocas de primera y postrera.

La mayor cantidad de insectos (336) corresponden a muestras colectadas, procedentes de MEBASA en granos de sorgo rojo, el tipo de almacenamiento en sacos al momento del muestreo (silos en reparación), favoreció su proliferación (Figura 1).

Las condiciones de humedad de 14.04 %, tiempo de almacenamiento y apariencia sucia que presentaron los granos procedentes de MONISA, no fueron las condiciones favorables para la reproducción y sobrevivencia de insectos plagas, pero favoreció el desarrollo de microorganismos (hongos y bacterias) (Figura 1).

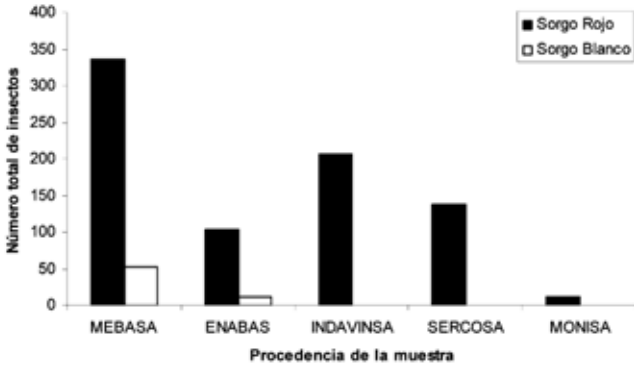

Figura 1. Número total de insectos encontrados en granos e impurezas en sorgo rojo y blanco en industrias y empresas almacenadoras, Nicaragua.

Entre los insectos considerados plagas secundarias el gorgojo plano de los granos *Cryptolestes* sp (Foto 2) predominó en granos de muestras de almacén. Este insecto daña los granos almacenados una vez que las plagas primarias han perforado los granos, además es capaz de causar serias infestaciones en granos con fisuras y quebrados aun en ausencia de insectos plagas primarias ya que la larva es capaz de penetrar en los granos. El tiempo de almacenamiento de (608 días), temperatura de 30 ºC favorecieron a que este género

[2]Vargas, F. 2006. Comunicación personal. Asociación Nacional de Productores de Sorgo (ANPROSOR). Managua, Nicaragua.

Foto 1: A. Adulto del pequeño *Rhizopertha dominica* (F.) Familia Bostrichidae. Orden Coleóptero. Plaga- Primarias en granos de sorgo. Identificado Laboratorio-Entomología UNA. Ing. Martha Zamora. **B.** Adulto del gorgojo plano de los granos *Cryptolestes* sp. Familia Cucujidae del Orden Coleóptero. Plagas-Secundaria en granos de sorgo. Identificado Laboratorio-Entomología UNA. Ing. Martha Zamora.

de insecto se desarrollara en mayor número (196) en granos colectados de INDAVINSA.

Otros insectos considerados plagas secundarias encontrados en menor número e identificados son: el gorgojo dentado del grano *Orizaephillus suranemensis* (L.) y el gorgojo castaño de la harina *Tribolium castaneum* (Herbst).

En granos de muestras de campo, el insecto telarañero del sorgo *Celema* sorghiella (Riley), fue el que predominó en granos de sorgo blanco. Las larvas dañan las panojas que están madurando, alimentándose de la semilla entretejiéndolas con sedas y excrementos. Las muestras colectadas en época de postrera no pasaron por ningún proceso postcosecha (secado), ya que fueron tomadas al momento de la cosecha.

Hongos en granos de almacén y campo. El mayor porcentaje de infección por hongos en granos almacenados fue de 98.5 % en granos de sorgo rojo procedente de MONISA. Las condiciones de humedad (14.04 %) y período largo de almacenaje (274 días), favorecieron el desarrollo de estos (Figura

Tabla 1. Condiciones de almacenamiento y análisis organoléptico de granos de sorgo (1 kg) en muestras de industrias y empresas de Nicaragua, 2005

Empresas / Industrias	Color del grano	impurezas (%)	Temperatura (º C)	Humedad (%)	Apariencia momento muestreo	Periodo de almacenaje (días)
MEBASA (Masaya, Catarina)	Rojo	**6.5**	31.1	12.38	Sucio	33
	Blanco	**4.6**	29.4	13.95	Sucio	33
ENABAS (Managua)	Rojo	1.5	29	**15.04**	Regular	*
	Blanco	0.89	29	14.04	Regular	*
INDAVINSA (León, Chinandega)	Rojo	3.05	30	12.66	Regular	608
SERCOSA (Chinandega, Somotillo)	Rojo	3.3	30.1	13.32	Regular	264
MONISA (Granada)	Rojo	4	32	14.04	Sucio	274
Finca San Isidro	Rojo		32	14.84	Sucio	-
	Blanco		32	13.9	Sucio	_
Finca Paraíso	Rojo		33	13.23	Sucio	_
	Blanco		30.5	12.72	Sucio	_

* No hay información

2). Christensen (1962), afirma que los hongos de granos almacenados crecen más rápido a temperaturas de 25-30 ºC y empiezan a desarrollarse a 3 ó 4 meses después cuando la humedad esta en 14-15 %, condiciones que presentaron dichas muestras. Los géneros de hongos que ocasionaron los mayores porcentajes de infección en granos son: *Helminthosporium* sp (Foto 4) y *Fusarium* spp. con 36.5 % y 36 % respectivamente en granos en almacén. En granos de sorgo blanco en muestras de campo *Helminthosporium* sp ocasionó infecciones de 79 %.

Estos hongos se consideran principalmente de campo. Moreno (1988), considera que cuando en una muestra de granos se aíslan solamente hongos de campo, se infieren dos situaciones: que el grano es recién cosechado, y si no es un grano recién cosechado, quiere decir que ha sido bien conservado, ya que no han desaparecido estos hongos por la acción de los hongos de almacén que se presentan bajo malas condiciones de almacenamiento.

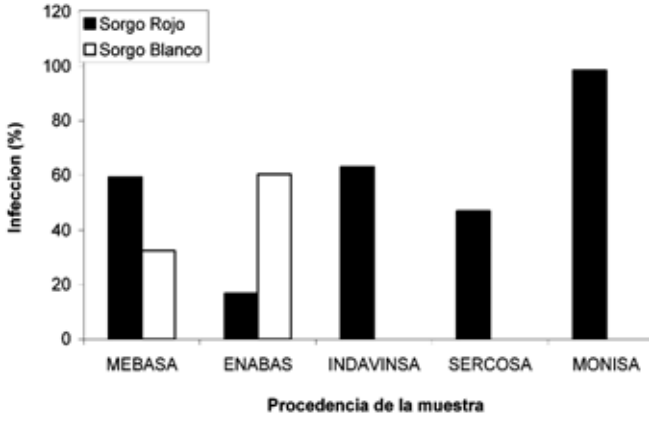

Figura 2. Porcentaje de infección por hongos en 400 granos de sorgo rojo y blanco en industrias y empresas almacenadoras, Nicaragua.

Aspergillus spp (Foto 3) considerado hongo de almacén fue el que mayormente afectó los granos con 25.5 % y 12 % de infección en granos de sorgo blanco de muestras colectadas de ENABAS y MEBASA. Gómez y Minelli (1990), asevera que el alto contenido de humedad superior al 13% y temperaturas 25-30 ºC favorece el crecimiento de estos hongos. Estas muestras presentaron una gran gama de géneros de hongos afectando los granos de los cuales se identificaron: *Mucor* sp. *Colletotrichum graminicola* (Cesati) G. W. Wilson y *Phytium sp.*

Entre las especies de *Aspergillus* identificadas, *A. parasitucus* Link y *A. flavus* Speare, son las que mayormente se asocian a la producción de aflatoxinas. Otras especies identificadas son: *A. niger* van Tieghem, *A. .fumigatus* Fres, *A. terreus* Thom, *A. ustus* (Bain) Tom and Church *y A. wentii* Wehmer. Además de este hongo el género de hongo *Fusarium* spp produce también diversas toxinas como Tricotecenos, Zearalenona, Moniliformina y Fusarina.

El 100 % de los granos infectados por hongos en muestras de campo, resultó en época de postrera en granos de sorgo blanco y rojo. La época de siembra del sorgo depende del régimen de lluvia de cada zona, siendo la época de postrera la mejor para la cosecha; ya que coincide con la estación seca (Nov-Dic) y disminuye así, los riesgos de pérdidas por mohos de la panoja, sin embargo las condiciones de precipitaciones (732.5 mm), que se presentó en la época de postrera

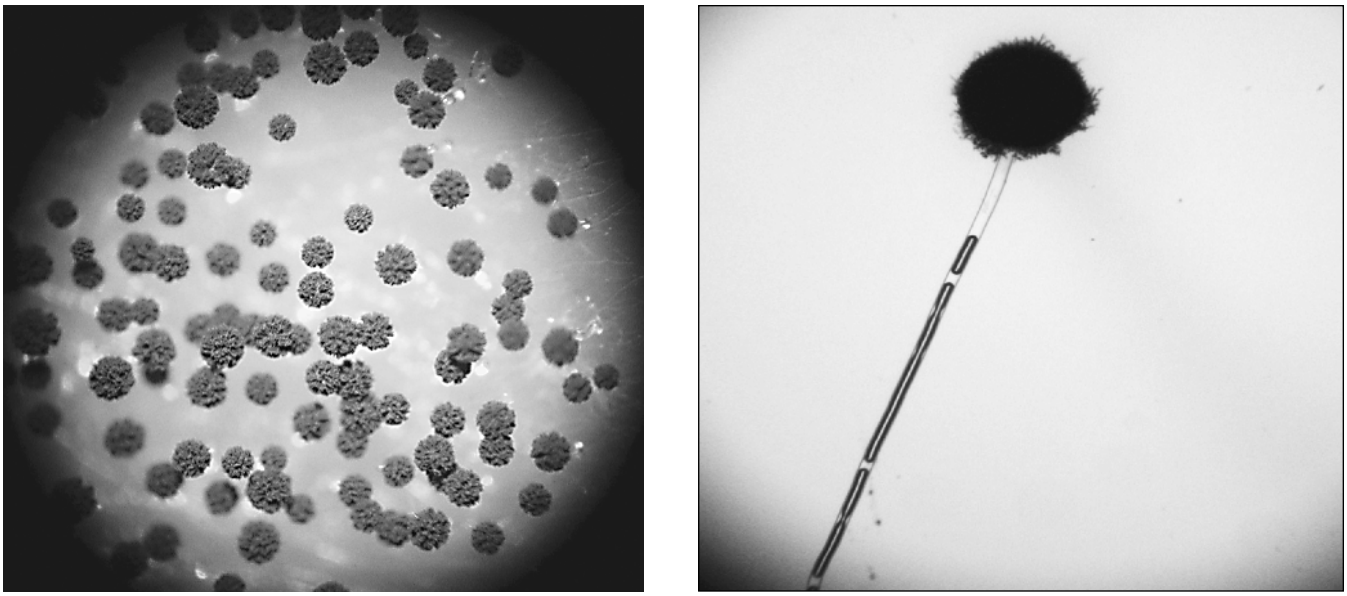

Foto 3: Grano de sorgo con crecimiento micelial de *Aspergillus niger* van Tieghem Identificado Laboratorio de micología UNA- Ing. Yanet Gutiérrez Gaitán.

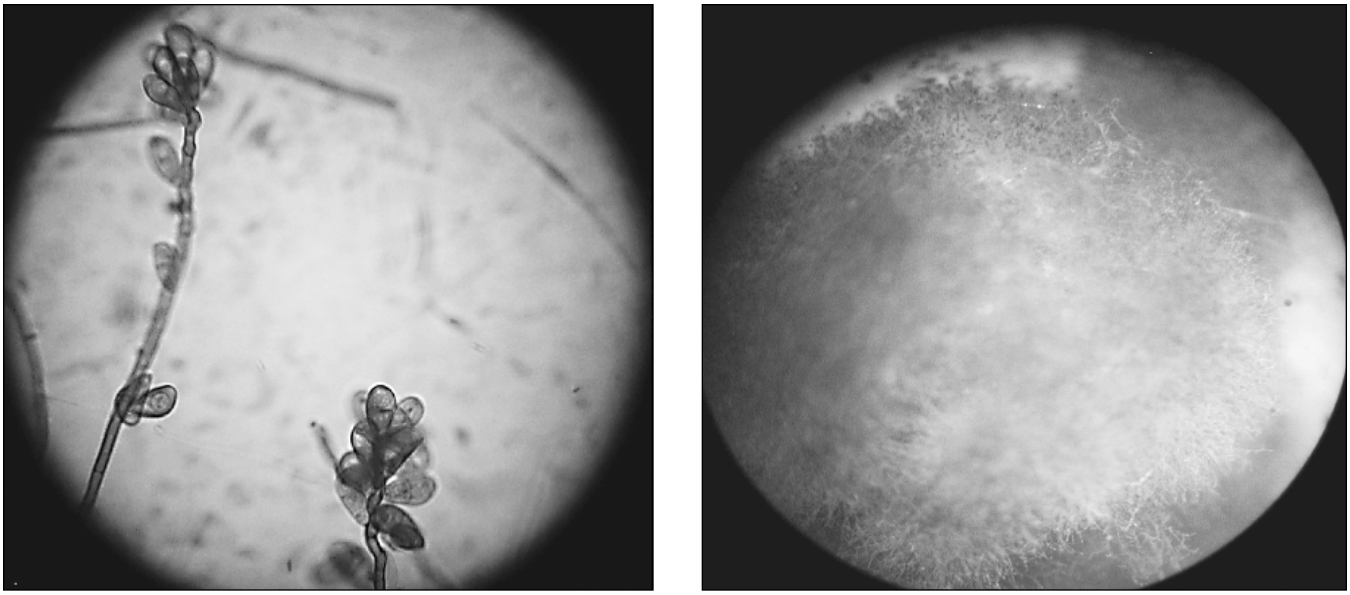

Foto 4 : *Helminthosporium* sp. **A**. Conidióforos pigmentado originando conidias individuales, alargados y con septos transversales; **B**. Crecimiento micelial después de una semana en granos de sorgo rojo. Identificado Laboratorio Micología- UNA- Ing. Yanet Gutiérrez Gaitán

durante la etapa de llenado y formación de grano favoreció el desarrollo de hongos asociados a mohos de la panoja.

Bacterias en granos de almacén y campo. Los géneros de bacteria identificadas en granos de sorgo en muestras de almacén y campo son: *Pseudomonas syringae* van Hall y *Bacillus megaterium* (De Bary) esta ultima predominó infectando en granos en todas las muestras en almacén. Al igual que el análisis de hongos en granos de almacén el mayor porcentaje de infección por bacterias resultó de la muestra colectada en MONISA con un 37 % en granos de sorgo rojo. Según Schneider (1995), la presencia de bacterias es indicación de niveles de deterioro del grano y generalmente sigue el ataque de insectos y hongos.

Los mayores porcentaje de infección en granos por *Pseudomonas* (70.25 %), resultó en época de primera. La condición de humedad relativa (79%) favoreció el desarrollo de esta bacteria. las que necesitan para su desarrollo humedad relativa alta. Según Schneider (1995), las bacterias dentro de los daños causados a los granos se encuentran la producción de potentes toxinas causante de diarreas e intoxicación .

Niveles de aflatoxinas en granos de almacén. En todas las muestras de granos almacenados, el análisis resultó por debajo del nivel establecido (<20 ppb) por la FAO. Entre los factores que favorecen la producción de aflatoxinas en granos almacenados esta la humedad, la cual esta en rangos de 16.5-18.0 % y temperaturas de 25-35 ºC (Moreno 1991), condición

que no se presentó al momento de la colecta de las muestras. Aparentemente la producción de aflatoxinas no ocurre a temperaturas menores de 10 ºC ni mayores de 45 ºC.

CONCLUSIONES

El principal insecto plaga primarias que afectó a granos almacenados fue el pequeño barrenador de los granos *Rhizopertha dominica* (F.). El gorgojo plano de los granos *Cryptolestes* sp., fue el insecto plaga secundaria que afectó en mayor número a granos en almacén y campo.

El insecto telarañero del sorgo *Celama* sorghiella (Riley), se presentó en mayor cantidad en granos de campo en época de postrera. El mayor porcentaje de infección por hongos en granos de almacén y campo fueron ocasionado por los géneros *Helminthosporium* sp. y *Fusarium* spp.

La bacteria *Bacillus megaterium* (De Bary) se encontró infectando a granos de sorgo en almacén y *Pseudomonas syringae* van Hall en granos de almacén y campo.

La humedad relativa fue el factor que favoreció a la infección por bacterias y las precipitaciones a las infecciones por hongos en granos de muestras de campo. De las especies identificadas del género *Aspergillu*s, *A. flavus* Link y *A. parasiticus* Speare se asocian a la producción de aflatoxinas en granos de sorgo; sin embargo, el análisis de aflatoxinas resultó por debajo del límite establecido (<20 ppb.), ya que principalmente el contenido de humedad de los granos no favoreció su producción.

AGRADECIMIENTOS

Al Programa Internacional de Investigación en Sorgo y Mijo (INTSORMIL), por el financiamiento para la realización de este estudio. Al Dr. Sergio Pichardo Guido y Dr. Edgardo Jiménez (Docentes Investigadores-UNA) por sus sugerencias a la presentación de este artículo.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICAS

ARÍAS VELÁSQUEZ, C. J y **DELL´´ ORTO TRIVELLI, H. 1985.** Insectos que dañan granos y productos almacenados. Santiago, Chile. Pp 139.

ALTAMIRANO, R y **ARROLIGA, R. M *et al*., 1982.** Contaminación por micotoxinas del sorgo nicaragüense (*Sorghum vulgare*). Laboratorio de tecnología de alimentos (LABAL). Ministerio de Industria. Boletin Técnico, Vol 3, N° 1.Managua, Nicaragua. Pp 31.

BARNETT, H. L and **HUNTER, B. B. 1998.** Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4a ed. American Phytopathologic Society, APS Press. St. Paul, Minnesota, USA. Pp 216

COMPTON, L. P. 1990. Agronomía del sorgo. Instituto de interacción para los cultivos para los trópicos semi áridos. Patanchevu, India. Pp 301.

CHRISTENSEN, C. M y **LOPEZ, L. C. 1962.** Daño que causan en México los hongos de granos almacenados. Folleto técnico No 44. Instituto Nacional de Investigación Agrícola. S. A. G. México, D.F. Pp 30.

FAO. 1993. Manual para el manejo postcosecha de semilla de granos a nivel rural. Santiago, Chile. Pp 391.

FAO. 1995. El sorgo y el mijo en la nutrición humana (Colección FAO:Alimentación y nutrición, No 27). Roma, Italia. Pp 197.

GOMEZ GUTIERREZ, O. J y **MINELLI, M. 1990.** La producción de semillas. Texto básico para el desarrollo del curso de producción de semillas en laUniversidad de Nicaragua. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias. Escuela de Producción Vegetal. Managua, Nicaragua. Pp 205.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). 1996. International Rules for Seed Testing. Rules 1996. Seed Sci. and Technol. 24 Suplement,Roma. Pp 335.

MORENO MARTINEZ, E. 1988. Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados. Talleres de Impresos de Alba. México D. F. Pp 109.

MORENO MARTINEZ, E. y **GUTIERREZ GIL, M. 1991.** La biología de *Aspergillus flavus* y la producción de aflatoxinas. 1a ed. Talleres de Litorama, S.A. México, DF..Pp 42.

RAMIREZ GENEL, M. 1981. Almacenamiento y conservación de granos y emillas. 8a ed. C.E.C.S.A. México, D.F. Pp 169-170.

SAMSON, R. A and **van REENEN- HOEKSTRA, E. S. 1988.** Introduction to food borne fungi. 3a ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS). Netherlands. Pp. 296.

SHCNEIDER, K. 1995. Microorganismos su importancia y control. ProgramaRegional Postcosecha. Pp 13.

SCHAAD, N. W. 1980. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. APS. E.E.U.U. Pp 36.