

***Fusarium moniliforme*, fumonisinas y *Aspergillus flavus* en granos de híbridos de maíz en el Estado Guárico, Venezuela¹**

Fusarium moniliforme, fumonisins and *Aspergillus flavus* in kernels of corn hybrids in Guarico State, Venezuela

C. Mazzani, O. Borges², O. Luzón², V. Barrientos³ y P. Quijada²

Resumen

Veinte híbridos experimentales y comerciales de maíz blanco y amarillo fueron evaluados en El Sombrero, Edo. Guárico, Venezuela, por incidencia natural de *Fusarium moniliforme* (FM), de fumonisinas (FUM) y de *Aspergillus flavus* (AF) en los granos, en un diseño en bloques completamente al azar con tres repeticiones. La incidencia de FM y AF se determinó por siembra directa de submuestras de cien granos enteros desinfectados, en el medio malta-sal-agar y se calificó como baja (entre 0 y 15%) intermedia (entre 15 y 30%) y alta (más de 30%). Los contenidos de FUM se determinaron por inmuno ensayo específico (VICAM, Sci. Tech, EE.UU.), considerándose altos aquellos valores mayores a 5 ppm. FM fue detectado en las 60 muestras analizadas, con diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre híbridos. La incidencia de FM fue intermedia en quince materiales y alta en los restantes, destacándose los híbridos D-3042, HFP-2, D-3038, CENIAP-81, D-3065-A y Tocarón-127 con los menores valores. El comportamiento de algunos materiales fue consistente en relación a evaluaciones previas de los mismos. No se encontraron diferencias significativas entre híbridos para contenido de FUM y el rango de contaminación entre híbridos fue estrecho, variando desde 1,0 ppm en Tocarón-127 hasta 4,0 ppm en Cargill-633; aunque todos resultaron contaminados, los contenidos de FUM fueron bajos. Esta variable se correlacionó positiva y significativamente con la incidencia de FM. Adicionalmente, se determinó baja incidencia de AF en diecinueve materiales e intermedia en uno. Los resultados sugieren diferencias genotípicas entre híbridos ante FM y que las condiciones ambientales son adecuadas para la ocurrencia natural de esta especie y sus toxinas. Se considera importante la inclusión de ésta evaluación en los programas de mejoramiento del maíz en Venezuela.

Palabras clave: *Fusarium moniliforme*, fumonisinas, *Aspergillus flavus*, *Zea mays*, híbridos.

Recibido el 05-11-1999 ● Aceptado el 05-04-2000

1. Parte de la Tesis presentada por el primer autor para obtener el Título de Doctor en Ciencias Agrícolas, Universidad Central de Venezuela.

2. Universidad Central de Venezuela (U.C.V.), Facultad de Agronomía, Apartado Postal 4579, Maracay 2101-A, Edo. Aragua.

3. Fundación para la Investigación Agrícola DANAC, Apartado Postal 182, San Javier, Edo. Yaracuy.

Abstract

Twenty experimental and commercial hybrids of white and yellow corn were evaluated at El Sombrero, Guárico State, Venezuela, for natural incidence of *Fusarium moniliforme* (FM), fumonisins (FUM) and *Aspergillus flavus* (AF) in the kernels, using a completely randomized block design with three replications. The incidence of FM and AF was estimated in subsamples of 100 kernels placed on a malt-salt-agar medium. Values in the range of 0-15 % were considered low, from 15 to 30% intermediate, and more than 30% high. The contents of FUM were quantified through specific immunoassay (VICAM, Sci. Tech., EE.UU.) and values above 5 ppm were considered high. FM was detected in all samples (60 samples) and significant differences ($P \leq 0,05$) were determined among hybrids. The incidence of FM was intermediate in fifteen hybrids and high in the others. Hybrids D-3042, HFP-2, D-3038, CENIAP-81, D-3065-A and Tocarón-127 were the less colonized. Some hybrids performance was consistent with their evaluations in other trials. FUM content differences among hybrids were not found, whose contamination range was narrow, from 1,0 ppm in Tocarón-127 to 4,0 ppm in Cargill-633. FUM content was positively and significantly correlated to FM incidence. Additionally, low incidence of AF was determined in nineteen hybrids and intermediate in the other ones. These results suggest genotypic differences among hybrids for FM and the existence of adequate environmental conditions for FM and natural fumonisins occurrence. It is considered important to include this evaluation in corn breeding programs in Venezuela.

Key words: *Fusarium moniliforme*, fumonisins, *Aspergillus flavus*, *Zea mays*, hybrids.

Introducción

El maíz, *Zea mays* L. es uno de los cultivos más difundidos en Venezuela produciéndose de manera significativa por lo menos en quince estados, entre los cuales Guárico aporta cerca del 25 por ciento de la producción (24).

Entre muchos patógenos que afectan la planta de maíz, *Fusarium moniliforme* Sheldon, agente causante de la enfermedad conocida como pudrición del tallo y de la mazorca (18), reviste particular interés por su amplia distribución, especialmente en áreas tropicales y subtropicales, su alta

capacidad toxigénica y de sobrevivencia, así como por su amplio ámbito de especies hospedantes (1, 22).

Las fumonisinas, un nuevo grupo de micotoxinas producidas en la naturaleza fundamentalmente por *Fusarium moniliforme* y *F. proliferatum*, han despertado una inquietud igual o mayor a las aflatoxinas producidas por *Aspergillus flavus* y en menor grado por *A. parasiticus*. La presencia de estas especies y sus toxinas en los granos representa un problema de primer orden para la industria del maíz en el

mundo por las enormes implicaciones que tienen tanto en la calidad del grano como en la salud pública y animal (1, 2).

A pesar de su reciente descubrimiento, las fumonisinas son la causa comprobada de distintas toxicosis en animales, entre las que destacan la leucoencefalomalasia en equinos (ELEM), el edema pulmonar porcino (PPE), una menor ganancia de peso, anomalías óseas, diarrea e inmunosupresión en aves, y hepatotoxicidad, nefrotoxicidad y carcinogénesis en roedores (8, 19). Asimismo, estudios epidemiológicos han revelado inusuales incidencias de cáncer esofágico en habitantes de la región de Transkei, Africa del Sur, y en ciertas áreas de China donde se consume maíz altamente contaminado con *F. moniliforme* y fumonisinas (11, 19, 28).

En Venezuela ha sido encontrada una elevada contaminación con hongos y micotoxinas en maíz almacenado y en el campo (6, 12, 17), y particularmente con *F. moniliforme* y las fumonisinas (14, 15, 16).

El control de hongos productores de toxinas es de gran importancia para la industria del maíz. En ese sentido, se han ensayado métodos basados en la prevención, remoción e inactivación, de los cuales la prevención luce como la alternativa más lógica y económica. Asimismo, se ha encontrado que una extensiva colonización de los granos de maíz con *F. moniliforme* y *A. flavus*, así como su contaminación con fumonisinas y aflatoxinas, ocurre desde el campo (20, 27).

Diferencias observadas en la susceptibilidad de genotipos de maíz a

la colonización de sus granos por hongos y a la consecuente contaminación con micotoxinas, dirigen las investigaciones hacia la selección de cultivares resistentes como una alternativa económica y segura para minimizar el problema. Interesantes resultados han sido obtenidos en investigaciones sobre la reacción de híbridos de maíz ante *F. moniliforme* y las fumonisinas (7, 10, 15, 16, 20, 21, 29) en las cuales, se ha comprobado un marcado efecto del genotipo en la expresión de la resistencia. Asimismo, importantes resultados han sido obtenidos en la evaluación de materiales resistentes a *A. flavus* y a las aflatoxinas (4, 5, 15, 16, 25). Las diferencias más claras han sido obtenidas con infección natural en una sola localidad, habiéndose demostrado que la reacción de los materiales está fuertemente influenciada por el ambiente y otros factores como los insectos plagas de la mazorca (16, 25, 26, 27).

Resulta prioritario incluir en los programas de mejoramiento del maíz en Venezuela la evaluación de los materiales por susceptibilidad a hongos toxigénicos de los granos, para contar con genotipos resistentes e incorporarlos en esos programas, así como es conveniente conocer la susceptibilidad de los cultivares utilizados o potencialmente disponibles para siembras comerciales. Sobre la base de esos argumentos se realizó esta investigación cuyo objetivo fue evaluar la incidencia natural de *F. moniliforme*, fumonisinas y *A. flavus* en un grupo de híbridos de maíz en el estado Guárico.

Materiales y métodos

Híbridos evaluados y ubicación del ensayo. Los materiales evaluados fueron híbridos experimentales y comerciales incluidos en los ensayos regionales del Programa de Mejoramiento del Maíz conducidos por la Fundación para la Investigación Agrícola DANAC. Durante el ciclo 1994-95 se realizó un ensayo ubicado en la Hacienda Las Guacamayas (El Sombrero, Edo. Guárico) conformado por 11 híbridos dobles experimentales de maíz blanco y amarillo de la Cuarta Serie, seleccionados previamente con base en características deseables, y 9 híbridos comerciales o semicomerciales. Los híbridos experimentales fueron obtenidos a partir de líneas derivadas de poblaciones formadas en la Fundación DANAC con cultivares procedentes del Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (FONAIAP-Venezuela) y del Centro Internacional para el Mejoramiento del Maíz y el Trigo (CIMMYT) de México y Centro América. Los mismos presentan un tipo de grano semiduro, con altos valores de peso específico y rendimiento en harina.

Diseño experimental. El diseño experimental fue el de bloques completos al azar con tres repeticiones. Cada parcela (unidad experimental) estuvo conformada por 2 hileras de 5 m de largo cada una. La distancia entre hileras fue de 0,80 m y entre plantas de 0,25 m (40 plantas por parcela). Fueron cosechadas todas las plantas de cada parcela. Las muestras (1-2 kg de granos), fueron tomadas del total cosechado por parcela, fueron llevadas

al Laboratorio de Micotoxicología de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela para los respectivos análisis.

Incidencia de *Fusarium moniliforme* (FM) y de *Aspergillus flavus* (AF). Para la determinación de la incidencia se utilizó el método de siembra directa de granos intactos (sin daños mecánicos ni de insectos) en un medio agarificado. Cien granos de cada genotipo por cada repetición fueron desinfectados con hipoclorito de sodio (NaClO 3,27%) durante 30 seg. , lavados cinco veces con agua destilada estéril, secados en placas de Petri con papel de filtro estéril y sembrados en la superficie del medio malta-sal-agar (pH 5,8) a razón de 10-12 granos/placa. Después de siete días de incubación a temperatura ambiente ($22 \pm 4^\circ\text{C}$) se procedió, utilizando la lupa estereoscópica, a determinar el número de granos colonizados por cada especie de hongo en estudio. Se consideraron colonizados aquellos granos que presentaron colonias esporulantes o al menos un conidióforo emergiendo de la testa o del pedúnculo. Aquellos granos que resultaron colonizados tanto por FM como por AF, fueron cuantificados en el recuento de cada especie. Los resultados se expresaron como porcentaje promedio de granos colonizados (13, 23).

Contenido de fumonisinas (FUM). Se evaluó el contenido total de fumonisinas ($B_1 + B_2$) presentes en los granos, mediante el método de cromatografía de afinidad (VICAM Science Technology, EE.UU.). Este método (fumonitest) utiliza columnas

de afinidad desarrolladas con anticuerpos monoclonales altamente específicos para FUM. En líneas generales, el método consiste en la molienda en seco de 50 g de muestra, extracción en una solución metanol-agua + NaCl, filtración-dilución, paso a través de la columna de afinidad, lavados, elución de la toxina con metanol puro (HPLC grado), derivatización y fluorometría (9).

Tratamiento estadístico de resultados. Los resultados de

incidencia de FM y de AF, así como del contenido de FUM, fueron evaluados por análisis de varianza y comparación de medias por la prueba de rangos múltiples de Duncan. Fue necesario utilizar transformaciones de $\arcsen \sqrt{\% / 100}$ y para ajustar la normalidad de la distribución de las variables incidencia de FM y AF e incidencia de FUM, respectivamente. Se realizó el análisis de correlación simple entre contenido de FUM e incidencia de FM.

Resultados y discusión

Incidencia de *Fusarium moniliforme* (FM). La frecuencia de FM fue elevada, detectándose en las 60 muestras analizadas. La incidencia de FM fue intermedia en quince materiales y alta en los restantes de acuerdo a la escala de clasificación utilizada (cuadro 1). El análisis de varianza mostró diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre híbridos (cuadro 2). En la comparación de medias el híbrido D-3042 con la menor incidencia (20,3%) solo fue significativamente diferente a HFP-1, Danac-2002 y Cargill-580, los más colonizados, con 41,3, 36,7 y 34,7 por ciento, respectivamente; a su vez HFP-

1 fue diferente a quince materiales (cuadro 3).

El rango de incidencia de FM observado en este grupo de híbridos fue similar al encontrado en evaluaciones previas realizadas en esta localidad (15,16). También el comportamiento individual de algunos híbridos fue consistente entre esas evaluaciones y la presente investigación tal y como se resume en el cuadro 4. Con excepción de Danac-2002, el comportamiento de esos híbridos comerciales o semicomerciales fue consistente frente a FM en esta localidad, probablemente derivado de caracteres asociados con la susceptibilidad a este hongo.

Cuadro 1. Criterios para la clasificación de la incidencia de *Fusarium moniliforme* (FM), fumonisinas y *Aspergillus flavus* (AF).

Clasificación	% de granos colonizados con FM y AF (1)	Fumonisinas ppm (2)
Baja	0 – 15	< 5
Intermedia	15 – 30	-
Alta	>30	>5

(1) Adaptación a los criterios de evaluación seguidos por Mazzani (13), Campbell *et al.* (5), Hoenish y Davis (10) y Bullerman y Tsai (3). (2) Hansen (9).

Cuadro 2. Cuadrados medios y significación de los análisis de varianza de incidencia de *Fusarium moniliforme* y de *Aspergillus flavus* y contenido de fumonisinas en granos de 20 híbridos de maíz blanco y amarillo en El Sombrero, Estado Guárico, Venezuela.

Fuente de Variación	G.L.	<i>Fusarium moniliforme</i> ⁽¹⁾	Fumonisin ⁽²⁾	<i>Aspergillus flavus</i> ⁽¹⁾
Híbridos	19	0,0116*	0,0248n.s.	0,0066*
Repeticiones	2	0,0246*	0,1676**	0,0023n.s.
Error	38	0,0055	0,0301	0,0030
C.V. (%)		13,71	38,10	9,74

(1) Valores transformados a arcsen $\sqrt{\% \text{ de granos colonizados } s/100}$. (2) Valores transformados a arcsen $\sqrt{\text{ppm de fumonisina s.}}$. *: Significativo al 5 %. **: significativo al 1%. n.s.: no significativo. C.V. : Coeficiente de variación.

Cuadro 3. Comparación de valores promedio de incidencia de *Fusarium moniliforme* y *Aspergillus flavus*, y contenido de fumonisinas en granos de 20 híbridos de maíz blanco y amarillo en El Sombrero, estado Guárico, Venezuela.

Híbridos	<i>Fusarium moniliforme</i> ⁽¹⁾	Fumonisin ⁽²⁾	<i>Aspergillus flavus</i> ⁽¹⁾
D-3042	(-) 20,3 ^{a(3)}	1,7 ⁽⁴⁾	4,7 ^{abc}
HFP-2(T)	21,3 ^a	2,0	5,3 ^{abc}
D-3038	22,0 ^{ab}	1,7	(-) 0,3 ^a
CENIAP-81(T)	22,3 ^{ab}	1,3	3,3 ^{abc}
D-3065-A ⁽⁵⁾	22,7 ^{ab}	3,7	2,7 ^{abc}
Tocorón-127(T)	23,0 ^{ab}	(-) 1,0	4,0 ^{abc}
D-3060-A	23,7 ^{ab}	2,0	2,0 ^{ab}
D-3043	23,7 ^{ab}	3,0	1,7 ^{ab}
Pioneer-3001w(T)	25,0 ^{abc}	1,7	12,3 ^{cd}
D-3016	25,0 ^{abc}	1,3	11,3 ^{cd}
D-3040	25,7 ^{abc}	1,7	(-)0,3 ^a
D-3064-A	26,7 ^{abc}	3,0	0,7 ^a
PB-8 (T)	27,0 ^{abc}	1,7	6,0 ^{abc}
D-3070-A	28,0 ^{abc}	1,4	1,7 ^{ab}
D-3029	28,7 ^{abc}	1,3	3,0 ^{abc}
Cargill-633 (T)	31,3 ^{abcd}	(+)4,0	(+) 16,0 ^d
D-3031	31,7 ^{abcd}	1,7	0,7 ^a
Cargill-580 (T)	34,7 ^{bcd}	2,3	(-) 0,3 ^a
Danac-2002 (T)	36,7 ^{cd}	3,0	1,0 ^{ab}
HFP-1(T)	(+)41,3 ^d	1,7	1,0 ^{ab}

⁽¹⁾ % de granos colonizados. ⁽²⁾ ppm. ⁽³⁾ Las medias seguidas de la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan ($\alpha = 0,05$). ⁽⁴⁾ No se realizó comparación de medias. ⁽⁵⁾ Maíz amarillo. (+): más colonizado o contaminado. (-): menos colonizado o contaminado. (T): híbrido comercial o semicomercial.

Además, se observó cierta estabilidad en los híbridos experimentales D-3038, D-3040 y D-3043 incluidos en ensayos previos (15), aunque su comportamiento fue más errático que el de los híbridos comerciales o semicomerciales presentados en el cuadro 4.

Los resultados de este ensayo coinciden con lo reportado por Zummo y Scott (29) quienes determinaron incidencias de FM desde 16,4 hasta 47,6 por ciento en seis híbridos evaluados bajo infección natural. Por otra parte, Pascale *et al.* (20) consideraron como susceptibles tres

híbridos que presentaron desde 23,8 hasta 60,0 por ciento de granos dañados bajo inoculación. También, según la escala de Hoenisch y Davis (10), el comportamiento de estos híbridos sería de intermedios a altamente susceptibles, más aún si se considera que este parámetro se determinó bajo infección natural.

Contenido de fumonisinas (FUM). No se encontraron diferencias significativas entre híbridos para contenido de FUM (cuadro 2), con rango estrecho de contaminación entre híbridos (cuadro 3), el cual se extendió desde 1,0 ppm en Tocorón-127

Cuadro 4. Comportamiento de híbridos comerciales o semicomerciales de maíz ante *Fusarium moniliforme* en tres ensayos en el estado Guárico, Venezuela.

Híbrido	% de granos colonizados por <i>F. moniliforme</i>		
PB-8	25,6 ⁽¹⁾	27,7 ⁽²⁾	27,0 ⁽³⁾
Tocorón-127	14,4	22,0	23,0
Pioneer-3001w	—	28,0	25,0
HFP-2	—	24,7	21,3
Danac-2002	—	22,3	36,7

⁽¹⁾ Mazzani (15). ⁽²⁾ Mazzani *et al.* (16). ⁽³⁾ Ensayo actual. —: No fueron evaluados.

hasta 4,0 ppm en Cargill-633; aunque todos resultaron contaminados, los niveles fueron bajos (< 5 ppm). Analogamente a lo observado con la incidencia de FM, algunos de los híbridos comerciales evaluados en este ensayo mostraron comportamiento similar al reportado en investigaciones previas (16), ante la contaminación con FUM. Los híbridos HFP-2, Tocorón-127 y Danac-2002 presentaron bajas concentraciones y diferencia de solo 1 ppm entre ensayos; menor estabilidad fue observada en PB-8 y Pioneer-3001w (16). Se determinó una correlación positiva y significativa ($r = 0,22$; $p = 0,098$) entre incidencia de FM y contenido de FUM, aunque el coeficiente de correlación fue bajo.

Los contenidos de FUM determinados en este grupo de híbridos son aceptables en maíz al compararlos con los obtenidos por Shelby *et al.* (21) en híbridos evaluados en once localidades (desde 5,8 hasta 30,5 ppm). Por su parte, Pascale *et al.* (20) encontraron desde cero hasta 196,0 ppm en granos dañados por *Fusarium* y desde cero hasta 93,2 ppm en granos asintomáticos de catorce híbridos evaluados durante cuatro años. Líneas de maíz, evaluadas en Italia e híbridos

evaluados en Portugal, Zambia y Benín, mostraron contenidos desde 2,85 hasta 4,45 ppm ($FB_1 + FB_2$) con incidencia desde 82 hasta 100 por ciento (7). Aunque legalmente no se ha establecido la tolerancia máxima permitida de FUM en maíz para consumo humano, los contenidos observados en este ensayo fueron menores que las tolerancias máximas establecidas para alimentos concentrados de uso animal (9).

Incidencia de *Aspergillus flavus* (AF). El análisis de varianza de la incidencia de AF arrojó diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre híbridos (cuadro 2), siendo baja en diecinueve materiales según la escala de clasificación utilizada (cuadro 1). Los híbridos Cargill-580, D-3040 y D-3038 presentaron la menor incidencia (0,3 %) y diferencias significativas con Cargill-633, Pioneer-3001w y D-3016, los más colonizados, con 16,0, 12,3 y 11,3 por ciento, respectivamente. A su vez, Cargill-633 fue diferente a diecisiete materiales (cuadro 3). Esto coincide con reportes anteriores (16), evidenciándose cierta consistencia en Pioneer-3001w, PB-8, Tocorón-127, Danac-2002 y HFP-2.

La baja incidencia pudo estar

condicionada por baja presión de inóculo de AF, alta incidencia de FM o las condiciones ambientales que prevalecen en la zona donde se realizó la evaluación. Algunos de los materiales (Pioneer-3001w, PB-8 y Tocarón-127) presentaron alta incidencia de AF cuando fueron sometidos a alta presión de inóculo de AF, baja incidencia de FM y a las condiciones ambientales de San Javier, Edo. Yaracuy (15,16), comportándose como altamente susceptibles de acuerdo a la clasificación de Campbell *et al.* (5). Independientemente de las consideraciones anteriores, el comportamiento de los materiales denotó influencia genética en la susceptibilidad a AF, ratificada por la significación estadística de las diferencias entre híbridos. No se evaluó la contaminación con aflatoxinas por la baja incidencia de AF.

El comportamiento diferente de algunos materiales ante AF y FM sugiere diferencias genotípicas entre los híbridos en la reacción a estas especies, lo cual puede ser objeto de comprobación experimental mediante estudios posteriores. Los híbridos HFP-1 y Danac-2002 presentaron las

mayores incidencias de FM (41,3 y 36,7%, respectivamente), y solo uno por ciento de AF. Pioneer-3001w, con el segundo valor más alto de incidencia de AF (12,3%), estuvo entre los menos colonizados por FM (25%). Sin embargo, en algunos materiales esa interacción no fue tan clara. Han sido señaladas algunas relaciones entre estas dos especies según las cuales la presencia de AF incrementa la incidencia de FM en los granos, mientras que los granos infectados por FM difícilmente son colonizados por AF (29), lo cual no concuerda plenamente con lo observado en esta investigación.

Los resultados demostraron la ocurrencia natural de FM, FUM y AF desde el campo en esta zona productora de maíz, y que los niveles encontrados hacen improbable un almacenamiento seguro. Resultó interesante la significación de las diferencias entre híbridos para incidencia de FM y AF, lo cual demuestra la influencia del genotipo en la reacción ante estas especies de hongos y la importancia que tiene incluir esta evaluación en los programas de mejoramiento del maíz en Venezuela.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela,

a la Fundación para la Investigación Agrícola DANAC y a FUNDACITE-Aragua por los aportes financieros que hicieron posible esta investigación.

Literatura citada

1. Bacon, C.W. and P.E. Nelson. 1994. Fumonisin production in corn by toxicogenic strains of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. J. of Food Protection 57(6): 514-521.
2. Bean, G.A. 1989. Maize mycotoxins in Latin America. Plant Dis. 73:597-600.
3. Bullerman, L.B. and W.J. Tsai. 1994. Incidence and levels of *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and fumonisins in corn and corn-based foods and feeds. J. of Food Protection 57(6): 541-546.
4. Campbell, K.W. and D.G. White. 1995. Inheritance of resistance to *Aspergillus* Ear Rot and aflatoxin in corn genotypes. Phytopath. 85: 886-896.
5. Campbell, K.W., D.G. White and J. Toman. 1993. Sources of resistance in F. corn hybrids to ear rot caused by *Aspergillus flavus*. Plant Dis. 77:1169.
6. Cati, S. y C. Mazzani. 1991. Micoflora de granos de maíz almacenados en el Estado Guárico (Venezuela): Identificación y cuantificación. Fitopatol. Venez. 4: 54. (Resumen).
7. Doko, M.B., S. Rapior, A. Visconti and J.E. Schjoth. 1995. Incidence and levels of fumonisin contamination in maize genotypes grown in Europe and Africa. J. Agric. Food Chem. 43(2): 429-434.
8. Dowling, T.S. 1997. Fumonisin and its toxic effects. Cereal Food World 42 (1): 13-15.
9. Hansen, T.J. 1993. Quantitative testing for mycotoxin. J. American Ass. Cereal Chem. 38(5): 346-348.
10. Hoenisch, R.W. and R.M. Davis. 1994. Relationship between kernel pericarp thickness and susceptibility to *Fusarium* ear rot in field corn. Plant Dis. 78: 517-519.
11. Marasas, W.F., F.C. Wehner, S.J. van Rensburg and D.J. van Schalkwyk. 1981. Micoflora of corn produced in human esophageal cancer areas in Transkei, South Africa. Phytopath. 71:792-796.
12. Martínez, A. 1991. Contribución al estudio de la flora fúngica y su toxigenicidad e incidencia de aflatoxinas en cereales y oleaginosas cultivadas en Venezuela. Trabajo de Ascenso. Caracas, Venezuela. Universidad Central de Venezuela. 290 pp.
13. Mazzani, C. y A. Layrisse. 1992. Resistencia de campo de genotipos de maní (*Arachis hypogaea* L.) a la infección de sus semillas por *Aspergillus* spp. Phytopathologia Mediterranea (Italia) XXXI: 96-102.
14. Mazzani, C., O. Borges, O. Luzón, V. Barrientos y P. Quijada. 1997. Incidencia de *Fusarium moniliforme* y contenido de fumonisinas en granos de cultivares de maíz blanco en fincas de los estados Guárico y Portuguesa, Venezuela. Memorias del II Congreso Latinoamericano de Micotoxicología. Maracay, Venezuela. pp. 74-75.
15. Mazzani, C. 1998. Incidencia de *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, aflatoxinas y fumonisinas en los granos de híbridos de maíz (*Zea mays* L.) en Venezuela. Tesis Doctoral. Maracay, Venezuela. Universidad Central de Venezuela. 121 pp.
16. Mazzani, C., O. Borges, O. Luzón, V. Barrientos y P. Quijada. 1999. Incidencia de *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, aflatoxinas y fumonisinas en ensayos de híbridos de maíz en Venezuela. Fitopatol. Venez. 12:9-13.
17. Medina, M.S. y A. Martínez. 1994. Detección de mohos y niveles de aflatoxinas y fumonisinas en maíz cultivado en Venezuela y su destrucción por amoniación. Anais I Congreso Latinoamericano de Micotoxicología. Río de Janeiro, Brasil. pp. 81-82.
18. McGee, D. 1988. Maize Disease: a reference source for seed technologists. St. Paul, Minnesota. APS Press. pp 13-15.

19. Norred, W.P. and K.A. Voss. 1994. Toxicity and role of fumonisins in animal diseases and human esophageal cancer. *J. of Food Protection* 57(6): 522-527.
20. Pascale, M., A. Visconti, M. Pronezuk, H. Wisniewska and J. Chelkowski. 1997. Accumulation of fumonisins in maize hybrids inoculated under field conditions with *Fusarium moniliforme* Sheldon. *J. Sci. Food Agric.* 74: 1-6.
21. Shelby, R.A., D.G. White and E.M. Bauske. 1994. Differential fumonisin production in maize hybrids. *Plant Dis.* 78:582-584.
22. Shepahard, G.S., P.C. Thiel, S. Stockenstrom and E.W. Sydenham. 1996. Worldwide survey of fumonisin contamination of corn and corn based products. *J. of AOAC International* 79 (3): 671-687.
23. Singh, K., J.C. Frisvad, U. Thrane and S.B. Mathur .1991. An illustrated manual on identification of some seed-borne *Aspergilli*, *Fusaria* and *Penicillia* and their mycotoxins. Hellerup, Denmark. Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries. pp. 6-7.
24. Venezuela. Ministerio de Agricultura y Cría. 1996. Anuario Estadístico Agropecuario. Dirección General Sectorial de la Oficina de Planificación del Sector Agrícola. Dirección de Estadística. Caracas, Venezuela.
25. Wallin, J.R., N.W. Widstrom and B.A. Fortnum. 1991. Maize populations with resistance to field contamination by aflatoxin B₁. *J. Sci. Food Agric.* 54: 235-238.
26. Wicklow, D.T. 1991. Epidemiology of *Aspergillus flavus* in corn. In Aflatoxin in corn: New perspectives. O.L. Shotwell and C.R. Hurburg (eds.). Iowa Agricultural and Home Experiment Station. Iowa State University, Ames, Iowa. Research Bulletin 599. pp. 315-327.
27. Widstrom, N.W. 1996. The aflatoxin problem with corn grain. *Advances in Agronomy* 56: 219-280.
28. Yang, C.S. 1980. Research on esophageal cancer in China: A review. *Cancer Res.*40:2633-2644.
29. Zummo, N. and G.E. Scott. 1992. Interaction of *Fusarium moniliforme* and *Aspergillus flavus* on kernel infection and aflatoxin contamination in maize ears. *Plant Dis.* 76: 771-773.