Hongos potencialmente ocratoxigénicos aislados de granos de café pergamino, oro verde y tostado en Jaén y San Ignacio, Cajamarca

Potentially ochratoxigenic fungi isolated from parchment, green gold and roasted coffee beans in Jaén and San Ignacio, Cajamarca

Fungos potencialmente ocratoxigênicos isolados de pergaminho, ouro verde e grãos de café torrados em Jaén e San Ignacio, Cajamarca

James Tirado<sup>1</sup>, Manuela Luján<sup>2</sup>

## **RESUMEN**

El café, en las provincias de San Ignacio y Jaén, de la región Cajamarca, es el cultivo de mayor importancia económica. El objetivo de esta investigación fue identificar los hongos asociados a granos de café pergamino, granos oro verde y granos tostados. De los almacenes de tres empresas exportadoras (Organización Agraria Cafetalera El Diamante, Cooperativa Agraria Cafetalera CASIL LTD y Cooperativa Agraria y de Servicios Unión de Cafetaleros Ecológicos-UNICAFEC). Las muestras fueron probabilísticas de 20 kg de café pergamino. De estas muestras se seleccionaron submuestras de 1.0 kg de café pergamino, 1.0 kg de café oro verde y 1.0 kg de café tostado, para el aislamiento de hongos. Se aislaron los hongos de *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. oryzae*, *A. tamarii*, *A. fumigatus* y *Penicillium citrinum*. *A. niger* tuvo mayor incidencia con 76.6 % al 91.2 % en granos de café pergamino y del 80 % al 97 % en granos oro verde. Otras especies aisladas fueron *Chaetomium globosum*, *Neurospora tetrasperma* y *Rhizopus delemar* en porcentajes de 0.0 a 4.2 %, de 0.0 a 3.0 % y de 0.0 a 1.6 %, respectivamente. En granos de café tostado no se desarrollaron hongos.

Palabras claves: Café, grano, hongo, pergamino, oro verde, tostado.

# **ABSTRACT**

Coffee, in the provinces of San Ignacio and Jaén, in the Cajamarca region, is the most economically important crop. The objective of this research was to identify the fungi associated with parchment coffee beans, green gold beans and roasted beans. From the warehouses of three exporting companies (Organización Agraria Cafetalera El Diamante, Cooperativa Agraria Cafetalera CASIL LTD and Cooperativa Agraria y de Servicios Unión de Cafetaleros Ecológicos-UNICAFEC). The samples were probability samples of 20 kg of parchment coffee. From these samples, subsamples of 1.0 kg of parchment coffee, 1.0 kg of green gold coffee and 1.0 kg of roasted coffee were selected for fungal isolation. The fungi *Aspergillus niger*, A. *flavus*, A. *oryzae*, A. *tamarii*, A. *fumigatus* and *Penicillium citrinum* were isolated. A. niger had the highest incidence with 76.6 % to 91.2 % in parchment coffee beans and 80 % to 97 % in green gold beans. Other isolated species were Chaetomium globosum, Neurospora tetrasperma and *Rhizopus delemar* in percentages of 0.0 to 4.2 %, 0.0 to 3.0 % and 0.0 to 1.6 %, respectively. No fungi developed on roasted coffee beans.

**Keywords:** Coffee, bean, mushroom, parchment, green gold, roasted.

DOI: https://doi.org/10.55996/dekamuagropec.v3i2.94

 <sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Universidad Nacional de Jaén, sector Yanuyacu, Ciudad Universitaria, Jaén, Perú; Email: james tirado@unj.edu.pe
 <sup>2</sup>Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Ciencias Biológicas, Av. Juan Pablo II S/N Urb. San Andrés Trujillo – La Libertad, Ciudad Universitaria, Trujillo Perú. CP 13001. Email: mlujan@unitru.edu.pe

### **RESUMO**

O café é a cultura economicamente mais importante nas províncias de San Ignacio e Jaén, na região de Cajamarca. O objetivo desta pesquisa era identificar os fungos associados aos grãos de café pergaminho, aos grãos de ouro verde e aos grãos torrados. Dos armazéns de três empresas exportadoras (Organización Agraria Cafetalera El Diamante, Cooperativa Agraria Cafetalera CASIL LTD e Cooperativa Agraria y de Servicios Unión de Cafetaleros Ecológicos-UNICAFEC). As amostras eram amostras de probabilidade de 20 kg de café em pergaminho. Dessas amostras, foram selecionadas subamostras de 1,0 kg de café em pergaminho, 1,0 kg de café verde dourado e 1,0 kg de café torrado para isolamento fúngico. Os fungos *Aspergillus niger*, A. *flavus*, A. *oryzae*, A. *tamarii*, A. *fumigatus* e *Penicillium citrinum* foram isolados. A. niger teve a maior incidência com 76,6% a 91,2% em grãos de café pergaminho e 80% a 97% em grãos de ouro verde. Outras espécies isoladas foram Chaetomium globosum, Neurospora tetrasperma e *Rhizopus delemar* em percentuais de 0,0 a 4,2 %, 0,0 a 3,0 % e 0,0 a 1,6 %, respectivamente. Nenhum fungo se desenvolveu em grãos de café torrados.

Palavras-chave: Café, grão, cogumelo, pergaminho, ouro verde, torrado.

### INTRODUCCIÓN

El café peruano se produce en 350 000 hectáreas de cafetales distribuidos en 10 departamentos, principalmente en las regiones de Amazonas, San Martín y Junín (Junta Nacional del Café, 2020) además de otras regiones como Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huánuco y Puno (ComexPerú, 2018). De este modo, el Perú es el noveno productor y séptimo exportador de café, siendo Estados Unidos el principal mercado (Cámara Peruana del Café y Cacao, 2017).

La calidad de los granos puede verse afectado por la acumulación de cadmio, arsénico, plomo (Condezo y Huaraca, 2018), herbicida glifosato (Tejeda et al., 2020), ataque de broca del café (Bustillo, 2006; Puerta y Pabón, 2018) y presencia de hongos que producen la ocratoxina A (Lugo-Melchor y Marino-Marmolejo, 2017). Estos hongos son organismos productores de esporas microscópicas, sobreviven en condiciones de alta humedad o cuando hay agua en el medio (Agrios, 2005). Su desarrollo se debe a condiciones de almacenamiento inadecuadas que afectan la inocuidad en el producto final (Oliveros et al., 2016) como lo es en el café crudo o "verde" (Rodríguez, 2006). En granos con una humedad de 11.5 % puede haber producción de ocratoxina A, aunque la aplicación de buenas prácticas de higiene son medidas preventivas, en el manejo del café orgánico en pergamino (Díaz et al. 2018).

Los hongos productores de la OTA en granos de café corresponden a los géneros Aspergillus y Penicillium (Agrios, 2005; Rosas et al., 2004; Gamboa-Gaitán, 2012; Rojas et al., 2015) siendo los más importantes el hongo *Aspergillus ochraceus G. Wilh.* (FAO, 2005; Fujii et al., 2002) y *Penicillium verrucosum Dierckx* (Pitt, 1987). Otros hongos que, posiblemente, producen ocratoxina en café son A.

carbonarius (Bainier) Thom (Rodríguez, 2006), A. niger Tiegh. (Bau, 2003; Carrillo, 2003), A. *melleus* Yukawa, A. sulphureus Thom & Church, A. auricomus (Guég.) Saito, A. ostianus Wehmer, A. petrakii Vörös-Felkai, A. sclerotiorum G.A. Huber, A. alliaceus Thom & Church, A. albertensis J. P. Tewari (Carrillo, 2003).

En granos de café pergamino brocado se aislaron a los hongos A. ochraceus, A. nidulans, A. terreus, A. niger, Penicillium spp., Rossellinia sp., Fusarium sp., Lasiodiplodia sp. y Curvularia sp. (Tirado y Matos, 2007) mientras que en café cereza se presentan los hongos Aspergillus spp., Penicillium spp., Fusarium spp., Cladosporium spp., Mucor spp. y Rhizopus spp. (Cajiao et al., 2016).

Por lo antes mencionado, el objetivo de esta investigación fue identificar hongos asociados a granos de café pergamino, granos de café oro verde y granos tostados, procedentes de Jaén y San Ignacio.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Población muestral, estuvo constituida por todos los granos de café en kg producidos en las provincias de Jaén y San Ignacio del departamento de Cajamarca, Perú, durante el periodo 2021, que se acopia en las empresas cafetaleras: Organización Agraria Cafetalera El Diamante, Jaén (Latitud: 5° 42′ 28″ S; Longitud: 78° 48′ 28 ″ W; Altitud: 731 m); Cooperativa Agraria Cafetalera CASIL LTD y Cooperativa Agraria y de Servicios Unión de Cafetaleros Ecológicos-UNICAFEC, San Ignacio (Latitud: 5° 08′ 46″ S; Longitud: 79° 00′ 16″ W; Latitud: 1283 m).

El muestreo se realizó usando la técnica del Muestreo Aleatorio Simple, teniendo en cuenta que

todos los individuos de la población tuvieron la misma oportunidad de ser elegidos. Se procedió a extraer porciones de granos de café con ayuda de una pluma, recorriendo, en forma de zigzag, todo el almacén hasta obtener la cantidad de 20 kg, de muestra, de granos de café. Los granos muestreados, fueron envasados en sacos de polipropileno, previamente rotulados, para ser trasladadas al Laboratorio de la empresa Peruinka Industrias S.A. y al Laboratorio Certificaciones del Perú S.A.-CERPER.

Para obtener el tamaño de la muestra, se siguió el procedimiento de las Normas Técnicas Peruanas, de muestreo de café verde y pergamino. La muestra fue obtenida con ayuda del calador o pluma cuyas medidas son de 29 a 36 de diámetro interno, muestreando en 3 puntos de cada saco (Norma Técnica peruana ISO 666:2013) en una cantidad de  $30 \pm 6$  g en cada uno de 10 sacos, si en el lote hubiese entre 10 y 100 sacos y no menos del 10 % del total, si en el lote hubiese más de 100 sacos (Norma Técnica Peruana ISO 4072:2016). De los 20 kg de muestra de granos obtenidos de cada empresa cafetalera, se realizó muestreos al azar para seleccionar la unidad de análisis. Con ayuda de un táper limpio, se extrajeron sub muestras de 1.0 kg de granos de café pergamino, 1.0 kg de granos de café oro verde y 1.0 kg de granos de café tostado.

El aislamiento de hongos en condiciones asépticas, con ayuda de la cámara de flujo laminar, los granos de café se sumergieron en hipoclorito de sodio al 1 % por 5 minutos. Se dejaron secar y se colocaron, con ayuda de una pinza previamente flameada, 10 granos en forma simétrica en cada una de 50 placas Petri esterilizadas de 100 mm de diámetro conteniendo 20 ml de medio de cultivo Papa Dextrosa Agar. Las siembras fueron incubadas a temperatura de 25 °C, hasta obtener el crecimiento de los hongos.

De las colonias de los hongos crecidos en las placas Petri, se cortaron rodajas, con un sacabocado, de 0.5 cm de diámetro, inoculándose en medio de cultivo PDA contenidas en placas Petri. Estás placas inoculadas con los hongos, fueron incubadas a 25 °C hasta lograr el crecimiento típico del hongo aislado. Los aislamientos purificados fueron sometidos a la extracción del ADN en la empresa Plant BIOTEC SRL, mediante los siguientes procesos:

#### Extracción de ADN

El método de extracción se llevó a cabo usando el método de buffer CTAB (2%) propuesto por Karthikeyan et al. (2010). Los ADN fueron cuantificados en Nanodrop para evaluar la concentración y pureza.

#### Reacción a la cadena de polimerasa (PCR)

El ensayo de PCR se llevó a cabo usando los primers ITS1/ITS4 usando la Taq DNA recombinant polymerase de Thermo Scientific. Los ciclos de PCR incluyeron la pre-desnaturalización a 94°C por 6 min, seguido de 35 ciclos de 94°C por 30 s, 17 54°C por 45 s, 72°C por 45 s y un paso de elongación final de 72°C por 5 min. Los amplicones fueron verificados en gel de agarosa al 1.5%. El ensayo se repitió por segunda vez para los aislamientos que no amplificaron en una primera etapa.

### Secuenciación

La secuenciación fue llevada a cabo en los laboratorios MACROGEN (Corea) usando el método Sanger de electroforesis capilar y en doble sentido de secuenciación.

## Alineamiento y búsqueda de secuencias

El alineamiento de las secuencias se llevó a cabo usando MEGA 10 y las secuencias consenso fueron buscadas en la base de datos del NCBI usando la herramienta de búsqueda BLAST. La incidencia de hongos asociados a granos de café. Se calculó

mediante la ecuación 1.

% de Incidencia = 
$$\frac{N^\circ$$
 de granos afectados  $1000$  N $^\circ$  de granos sembrados en medio de cultivo PDA

#### RESULTADOS

#### Identificación de hongos

Se identificaron los hongos Aspergillus niger, A. flavus, A. oryzae, A. tamarii, A. fumigatus, Penicillium citrinum. A. niger, sobre los granos de café mostró al inicio un micelio blanco que con el transcurso de los días formó el moho, característico, de color negro. Al ser purificado, en medio PDA, el hongo desarrolla masas de esporas de color negro. Por su parte, A. flavus, sobre los granos, desarrolló un moho de color verdoso brillante. A. oryzae mostró un moho de color marrón verdoso que al ser purificado desarrolló una colonia verdosa que conforme avanza la edad se tornó de color un tanto marrón. El hongo A. tamarii en los granos de café desarrollaron un micelio blanquecino al inicio que posteriormente, al esporular, los mohos se observaron de color marrón y marrón verdoso, en algunos casos. Al ser purificados, las colonias se mostraron de color marrón claro y en otros casos de color marrón chocolate. En cambio, A. fumigatus, tanto en granos de café como en el aislamiento puro, presentaron un moho de color verde azulado. P. citrinum sobre los granos de café afloraron como un moho verde grisáceo.

Otros hongos recuperados a partir de granos de café fueron: Chaetomium globosum que, sobre los granos de café, desarrolló una colonia blanquecina y en otros casos desarrolló una colonia lanosa amarillenta; Neurospora tetrasperma sobre los granos de café desarrolló un micelio con fibras marrones que al ser purificada la colonia se muestra blanquecina, y *Rhizopus delemar* 

presentó una colonia lanosa con tonalidad marrón (Tabla 1 y Figura 1).

#### Incidencia de hongos asociados a granos de café

En café pergamino el hongo A. *niger* es el que se presentó con mayor incidencia con valores de 91.2%, 76.6% y 77.0% que corresponden a la Organización El Diamante, UNICAFEC y CASIL, respectivamente. El hongo A. *flavus* se presentó con una incidencia de 0.0 % hasta 5.2%; A. *oryzae* varía de 1.2% a 6.4%; A. *tamarii* de 1.2% a 4.0%; A. *fumigatus* de 0 % a 0.4% y P. citrinum de 0% a 2.8%. Los hongos C. *globosum*, N. *tetrasperma* y R. delemar, no superan el 5% de incidencia en granos de café pergamino (Tabla 2).

La incidencia de hongos en granos de café oro verde, al igual que en granos de café pergamino, el hongo A. niger es el que presentó mayor incidencia, con valores de 97%, 92.4% y 80% en la Organización El Diamante, cooperativa UNICAFEC y cooperativa CASIL, respectivamente. En la empresa CASIL, el hongo A. flavus no desarrolló su colonia mientras que en las empresas El Diamante y UNICAFEC obtuvo 0.2 % de incidencia. En cambio, A.oryzae presentó incidencia de 0.8% a 5.8%. A. tamarii solamente presento el 1.6% en la empresa UNICAFEC y no desarrolló en los granos oro verde de las otras empresas. A. fumigatus se presentó en la empresa El Diamante y CASIL con incidencia de 0.2% y 1.0%, respectivamente, y P. citrinum sólo se desarrolló en la empresa CASIL en un 0.2 % de incidencia. Los hongos C. globosum, N. tetrasperma y R. delemar no superan el 1.0% de incidencia. Al promediar los valores de la incidencia de las empresas El Diamante, UNICAFEC y CASIL (Tabla 3), se observa que el hongo A. niger presentó una incidencia del 81.6%, 89.8% y 0% en granos de café pergamino, granos de café oro verde y granos tostados, respectivamente.

Los hongos A. *oryzae*, A. *tamarii*, A. *flavus*, A. *fumigatus* y P. citrinum se presentaron con incidencia de 3.3%, 2.2 %, 1.9%, 0.3% y 1.2%, respectivamente; mientras que en café oro verde presentaron incidencia de 3.1%, 0.5%, 0.1%, 0.4 % y 0.1%, respectivamente.

Tabla 1. Identificación molecular de hongos asociados a granos de café

N°	Búsqueda	Descripción	% de identidad	N° de acceso GenBank
1	BLAST	Aspergillus flavus isolate B63 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	99.47	MZ618696.1
2	BLAST	Aspergillus oryzae strain Beca_85 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribo somal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	99.64	KY234277.1
3	BLAST	Aspergillus tamarii strain Sp 2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	99.64	MT722141.1
4	BLAST	Aspergillus tamarii strain WZ-6 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	100	KP281441.1
5	BLAST	Aspergillus fumigatus strain FJL-37Y-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	99.61	MN588073.1
6	BLAST	Penicillium citrinum isolate ACD-8 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	99.80	OM349550.1
7	BLAST	Chaetomium globosum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	100	KT833615.1
8	BLAST	Neurospora tetrasperma 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	100	FJ904922.1
9	BLAST	Chaetomium globosum strain CBS 167.73 small subunit ribosomal RNA gene, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	99.81	MH860654.1
10	BLAST	Rhizopus delemar UICC 524 genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence	100	LC514332.1

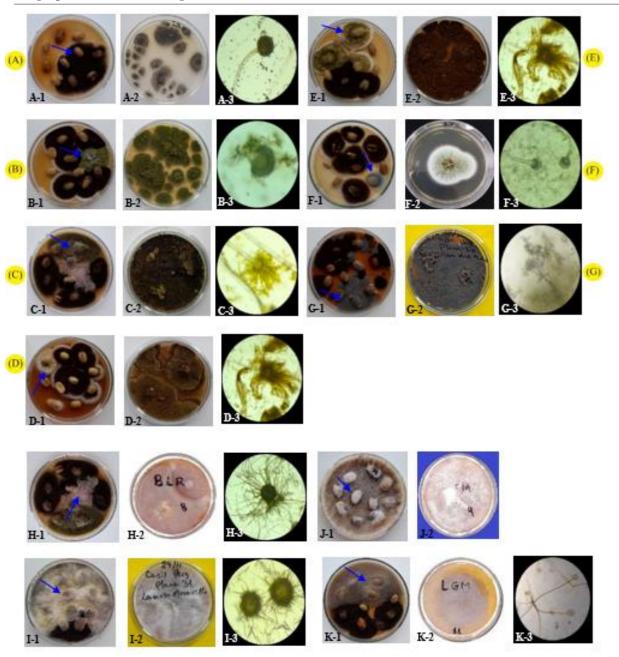


Figura 1. Hongos asociados en granos de café. (A) A. *niger*: A-1 Desarrollados en granos, A-2 colonia pura, A-3 esporangióforo (45X); (B) A. *flavus*: B-1 Desarrollados en granos, B-2 aislamiento puro, B-3 esporangióforo (45X); (C) A. *oryzae*: C-1 desarrollado en granos, C-2 aislamiento puro, C-3 esporangióforo (45X); (D) A. *tamarii*: D-1 desarrollado en granos, D-2 aislamiento puro, D-3 esporangióforo (45X); (E) A. *tamarii*: E-1 desarrollado en granos, E-2 aislamiento puro, E-3 esporangióforo (45X); (F) A. *fumigatus*: F-1 desarrollado en granos, F-2 aislamiento puro, F-3 esporangióforo (45X); (G) P. citrinum: G-1 Desarrollados en granos, G-2 colonia pura, G-3 Fiálides (100X); (H) C. globosum: H-1 Desarrollados en granos, H-2 aislamiento puro, H-3 peritecios (10X); (I) C. globosum: I-1 desarrollado en granos, I-2 aislamiento puro, I-3 peritecio (10X); (J) N. tetrasperma: J-1 desarrollado en granos, J-2 aislamiento puro; (K) R. delemar: K-1 desarrollado en granos, K-2 aislamiento puro, K-3 zigoporangióforo (10X).

Tabla 2. Porcentaje de incidencia de hongos asociados a granos de café

no de	Hongo	Organización Agraria Cafetalera El Diamante		Cooperativa UNICAFEC		Cooperativa CASIL	
Tipo de grano		N° granos afectados	% granos afectados	N° granos afectados	% granos afectados	N° granos afectados	% granos afectados
	A. niger	$456^a/500^b$	91.2	$383^a/500^b$	76.6	$385^a/500^b$	77.0
	A. flavus	3/500	0.6	26/500	5.2	0/500	0.0
inc	A. oryzae	6/500	1.2	32/500	6.4	11/500	2.2
am	A. tamarii	6/500	1.2	20/500	4.0	7/500	1.4
ere	A. fumigatus	0/500	0.0	2/500	0.4	2/500	0.4
% P.	P. citrinum	4/500	0.8	0/500	0.0	14/500	2.8
Café Pergamino	C. globosum	4/500	0.8	1/500	0.2	21/500	4.2
O	N. tetrasperma	0/500	0.0	0/500	0.0	15/500	3.0
	R. delemar	0/500	0.0	15/500	3.0	8/500	1.6
	A. niger	485 <sup>a</sup> /500 <sup>b</sup>	97.0	462 <sup>a</sup> /500 <sup>b</sup>	92.4	400 <sup>a</sup> /500 <sup>b</sup>	80.0
	A. flavus	1/500	0.2	1/500	0.2	0/500	0.0
e	A. oryzae	4/500	0.8	29/500	5.8	13/500	2.6
erc	A. tamarii	0/500	0.0	8/500	1.6	0/500	0.0
Café Oro Verde	A. fumigatus	1/500	0.2	0/500	0.0	5/500	1.0
Ö	P. citrinum	0/500	0.0	0/500	0.0	1/500	0.2
ıfé	C. globosum	0/500	0.0	2/500	0.4	4/500	0.8
ర	N. tetrasperma	0/500	0.0	0/500	0.0	0/500	0.0
	R. delemar	0/500	0.0	1/500	0.2	0/500	0.0
	A. niger	0a/500b	0.0	$0^{a}/500^{b}$	0.0	$0^{a}/500^{b}$	0.0
	A. flavus	0/500	0.0	0/500	0.0	0/500	0.0
_	A. oryzae	0/500	0.0	0/500	0.0	0/500	0.0
adc	A. tamarii	0/500	0.0	0/500	0.0	0/500	0.0
ost	A. fumigatus	0/500	0.0	0/500	0.0	0/500	0.0
Café Tostado	P. citrinum	0/500	0.0	0/500	0.0	0/500	0.0
Zafe	C. globosum	0/500	0.0	0/500	0.0	0/500	0.0
O	N. tetrasperma	0/500	0.0	0/500	0.0	0/500	0.0
	R. delemar	0/500	0.0	0/500	0.0	0/500	0.0

a=Número de granos afectados; b=Número de granos sembrados en medio PDA

Tabla 3. Porcentaje de incidencia total en las tres empresas

	Granos de café pergamino		Granos de café oro verde		Granos de café tostados	
Hongo	N° granos afectados	% granos afectados	N° granos afectados	% granos afectados	N° granos afectados	% granos afectados
A. niger	1224 <sup>a</sup> /1500 <sup>b</sup>	81.6	1347 <sup>a</sup> /1500 <sup>b</sup>	89.8	0a/1500b	0.0
A. flavus	29/1500	1.9	2/1500	0.1	0/1500	0.0
A.oryzae	49/1500	3.3	46/1500	3.1	0/1500	0.0
A. tamarii	33/1500	2.2	8/1500	0.5	0/1500	0.0
A. fumigatus	4/1500	0.3	6/1500	0.4	0/1500	0.0
P. citrinum	18/1500	1.2	1/1500	0.1	0/1500	0.0
C. globosum	26/1500	1.7	6/1500	0.4	0/1500	0.0
N. tetrasperma	15/1500	1.0	0/1500	0.0	0/1500	0.0
R. delemar	23/1500	1.5	1/1500	0.1	0/1500	0.0

a=Número de granos afectados; b=Número de granos sembrados en medio PDA

#### DISCUSIÓN

Los hongos, identificados, de los géneros Aspergillus y Pencillium son reportados como ocratoxigénicos (Luna et al., 2010; Rojas et al., 2015; Casas-Junco et al., 2018; Mantana et al., 2021). El hongo A. *niger* (Tabla 2) con 76.6% a 91.2%, de incidencia, en café pergamino y de 80% a 97% en café oro verde, coinciden con el reporte de Luna et al. (2010), quien reportó a A. *niger* con un 87 % y por Garrido-Ramírez et al. (2018) quien reportó una frecuencia de 82% a 89%. Es posible que, la alta incidencia de este hongo, daría lugar a la acumulación de la OTA en los granos de café, toda vez que A. *niger* es ocratoxigénico (Gamboa-Gaitán, 2012; Luna et al., 2010).

Por otro lado, A. flavus, A. fumigatus y Penicillium sp. fueron las especies con baja incidencia además que no son reportados como productores de OTA en café (Luna et al. 2010), pues A. flavus sólo produce aflatoxina (Arrúa et al., 2013) y A. fumigatus es ocratoxigénico, pero en cebada a nivel in vitro (Márquez-Benavides et al., 2022). Asimismo, A. tamarii tampoco produce ocratoxina (Frisvad et al., 2019) ni aflatoxinas (Abarca et al., 2000). El hongo A. *oryzae* también ha sido aislado de granos de café brocados (Alves et al. 2020) pero no es ocratoxigénico (Abarca et al., 2000; González, 2010) sino se comporta como detoxificador de OTA (Xiong et al., 2020); aunque, no se descarta que A. oryzae y A. tamarii sean ocratoxigénicos (Jeska-Skowron et al., 2017).

Alvindia y Acda (2010) reportaron a P. *citrinum* incidencia de 2.14% en granos de café lo cual coincide con la presente investigación ya que este hongo se presentó en porcentajes de 0.1 a 1.2% (Tabla 3), pero no existen reportes de la producción de OTA en granos de café por éste hongo, el mismo que produce citrinina, en maíz (Martínez, 2003). Por

su parte, Jeska-Skowron et al. (2017) manifiesta que P. *citrinum* posiblemente es productor de OTA.

Los hongos *Chaetomium globosum* (Zichao et al., 2018), *Neurospora tetrasperma* (Gladieux et al., 2022) y *Rhizopus delemar* (Gryganskyi et al. 2018), no son reportados como productores de ocratoxina A En café tostado, Casas-Junco et al. (2018) recuperó Aspergillus en un 95.4 % y Penicillium un 4.5%, pero otros reportes indican que la cafeína actúa como fungicida (Montes- Belmont et al., 2000) y que al

pero otros reportes indican que la cafeína actúa como fungicida (Montes- Belmont et al., 2000) y que al aplicarse en concentraciones de 0.1 a 1.0% de cafeína inhibe el desarrollo de A. *flavus*, Fusarium semitectum, Fusarium sp., Penicillium sp., A. *niger* y A. ochraceus (Fujii et al., 2004) y en concentraciones de 10 mg/mL de cafeína inhibe completamente el crecimiento de A. *niger*, A. terreus, *Chaetomium globosum* y *Cladosporium herbarum* (Kwaśniewska et al., 2018). Esto demuestra que la cafeína ha impedido el desarrollo fungoso, ya que, en granos de café tostado, no desarrollaron hongos.

# CONCLUSIONES

Se aislaron, en granos de café pergamino y oro verde, los hongos Aspergillus niger, A. flavus, A. oryzae, A. tamarii, A. fumigatus y Penicillium citrinum, posiblemente ocratoxígenos. En los granos de café pergamino y oro verde se aislaron hongos que no producen ocratoxina como Chaetomium globosum, Neurospora tetrasperma y Rhizopus delemar. Mientras que en los granos de café tostado no se desarrollaron hongos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abarca, M.L., Bragulat, M.R., Castellá, G., Accensi, F. y Cabañes, J. (2000). Hongos pro ductores de micotoxinas emergentes. Revista Iberoamericana de Micología, 17, 63-68. http://www.reviberoammicol.com/2000-

- 17/S63S68.pdf
- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Academic Press. New York, USA.
- Alves, S., Fonseca, Alvarenga, R.G.F. de Azevedo, N., Micotti, E., Chalfound, S.M., Batista, L.R. (2020). Fungi associated to beans infested with coffee berry borer and the risk of ochratoxin A. Food Control, 113: 107204. https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S095 6713520301201?token=1F653C13EEB79 4F0711625B94E72C1303E3834451FD3284E 63FD61171BD107FF51A78A0B98EA75FEB 917DB0E36C24005&originRegion=us-east-1&originCreation=20220405231209
- Alvindia, D.G. and Acda, M.A. (2010). Mycoflora of coffee beans in the Philippines. Journal of the International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences, 16 (2), 116-125. https://www.researchgate.net/publication/273 441569\_MYCOFLORA\_OF\_COFFEE\_BEA NS\_IN\_THE\_PHILIPPINES/link/5500ef460c f2d61f8211e14e/download
- Arrúa, A.A., Moura, J., Fernández, D. y Cazal, C. (2013). Aspergillus y micotoxinas. Rev UN Med, 2(1), 141-169.

  http://investigacion.uninorte.edu.py/wp-content/uploads/2018/07/v02-a09.pdf
- Bau, M. 2003. Caracterización molecular de especies ocratoxigénicas del género Aspergillus sección Nigri [Memoria de post grado, Universidad Autónoma de Barcelona]. http://www.tdx.cesca.es/TESIS\_UAB/AVAIL ABLE/TDX-0313106-170533/.
- Bustillo, A.E. (2006). Una revisión sobre la broca del café, Hypothenemus hampei (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), en Colombia. Revista Colombiana de Entomología, 32(2), 101-116. http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v32n2/v32n 2a01.pdf

- Cámara Peruana del Café y Cacao. (2017). Estudio del mercado del café peruano. Proyecto Café y Clima. 73p. https://camcafeperu.com.pe/admin/recursos/p ublicaciones/Estudio- de-mercado-del-cafe-peruano.pdf
- Cajiao, Á., Rojas, L., Ayala, C. y Sánchez, E. (2016).

  Aislamiento de hongos asociados al grano de café provenientes de zonas productoras en Norte de Santander-Colombia.

  @LIMENTECH CIENCIA Y TECNOLOGÍA ALIMENTARIA ISSN 1692-7125, 14 (1), 49-57.
  - http://revistas.unipamplona.edu.co/ojs\_vicein ves/index.php/ALIMEN/article/view/2125/15 98
- Carrillo, L. 2003. Los hongos de los alimentos y forrajes. Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Salta-Argentina.

  http://www.unsa.edu.ar/matbib/hongos/04htex toaspergilos.pdf.
- Casas-Junco, P.P., Ragazzo-Sánchez, J.A., Ascencio-Valle, F. and Calderón-Santoyo, M. (2018).

  Determination of potentially mycotoxigenic fungi in coffee (Coffea arabica L.) from Nayarit. Food Science and Biotechnology, 27(3), 891–898. https://www.researchgate.net/publication/321 948786\_Determination\_of\_potentially\_mycot oxigenic\_fungi\_in\_coffee\_Coffea\_arabica\_L\_from\_Nayarit
- ComexPerú. (22 de junio de 2018). Café, producto estrella para el mundo. https://www.comexperu.org.pe/articulo/cafe-producto-estrella-para-el-mundo.
- Condezo, S. y Huaraca, C. V. (2018). Cuantificación de plomo, cadmio y arsénico en granos de cacao Theobroma cacao L. y café Coffea arabica L. de la zona de Jaén-Cajamarca

- durante el periodo febrero-julio 2018 [Tesis de pregrado, Universidad Norbert Wiener].

  Repositorio Institucional.

  http://repositorio.uwiener.edu.pe/xmlui/handle
  /123456789/2571
- Díaz, A., Silva, M.I. y Dávila, J.C. (2018). Relación entre las buenas prácticas de higiene y la ocurrencia de ocratoxina A en café (Coffea arabica L.) orgánico de las principales zonas cafetaleras del Perú. Scientia Agropecuaria, 9 (2), 177–187. http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v9n2/a02v9 n2.pdf.
- FAO. 2005. Un café más sano. Organización de las
  Naciones Unidas para la Agricultura y la
  Alimentación Departamento de Agricultura,
  Bioseguridad, Nutrición y Protección del
  Consumidor (AG).
  http://www.fao.org/AG/esp/revista/0607sp1.ht
- Frisvad, J.C., Hubka, V. Ezekiel, C.N., Hong, S.B., Nováková, A., Chen, A.J., Arzanlou, M., Larsen1, T.O, Sklen F., Mahakarnchanakul, W., Samson, R.A. and Houbraken, J. (2019). Taxonomy of Aspergillus section Flavi and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. Studies in Micology, 93, 1–63. https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S016 6061618300289?token=4FAD1EF923FC381 D78D2F4EEE259FAEE458020391B4F498B 0AE5EEA86063BCACF3CB2656FFA9DE8 CD895F150A289926C&originRegion=useast-1&originCreation=20220405215839
- Fujii, S.; Sataque, E.Y. y Yoko, E. (2002). Ocratoxina
  A em café: Controle e metodologia analítica
  com ênfase a inovação no contexto de
  segurança alimentar Ochratoxin A. in. coffee:
  control and analitical methodology with
  emphasis in food safety. Universidade

- Estadual de Londrina, Brasil. Semina: Ciências Agrárias, 23 (2), 273-292. http://www.uel.br/proppg/semina/pdf/semina\_23\_2\_19\_19.pdf.
- Fujii, S., Garcia, F., Hiromi, M., dos Santos, M.B., Castro, R.J.H. y Yoko, E. (2004). Atividade fungistática "in vitro" de cafeína em fungos associados com grãos de café. Acta Scientiarum Agronomy Maringa, 26(3), 279-285.
  - https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/view/1818/1273
- Gamboa-Gaitán, M. A. (2012). Presencia de Aspergillus y otros simbiontes fúngicos en granos de café procedentes de Colombia. Acta Biológica Colombiana, 17 (1), 39-50. http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v17n1/v17n 1a3.pdf.
- Garrido-Ramírez, E.R., Hernández-Gómez, E., Esponosa-Paz, N., Camas-Gómez, R., Quiroga-Madrigal, R.R., Rincón-Espinosa, M.P Farrera-Ruiz, L.D. (2018).Identificación de hongos y micotoxinas asociadas a granos de café (Coffea L.) en Chiapas, México. Agroproductividad, 11(12), 57-64. https://revistaagroproductividad.org/index.php/agroproducti vidad/article/view/1307/1068
- González, A. (2010). Diagnóstico y control de especies de Aspergillus productoras de ocratoxina A [Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid]. Repositorio Institucional. https://eprints.ucm.es/id/eprint/10545/1/T309
  - https://eprints.ucm.es/id/eprint/10545/1/T309 77.pdf
- Gladieux, P., De Bellis, F., Hann-Soden, C.,
  Svedberg, J., Johannesson, H. and Taylo, J.W.
  (2022, 20 de setiembre). Population genomics of Neurospora Insights Into the Life History of a Model Microbial Eukaryote.

- Gryganskyi, A.P., Golan, J., Dolatabadi, S., Mondo, S., Robb, S., Idnurm, A., Muszewska, A., Steczkiewicz, K., Masonjones, S., Liao, H., Gajdeczka, M.T., Anike, F., Vuek, A., Anishchenko, I.M., Voigt, K., de Hoog, G.S., Smith, M.E., Heitman, J., Vilgalys, R. and Stajich, J.E. (2018). Phylogenetic and Phylogenomic Definition of Rhizopus Species. G3, 8, 2007-2018. https://academic.oup.com/g3journal/article/8/6/2007/6028058
- Junta Nacional del Café (07 de febrero de 2020.

  Exportación de café peruano disminuyó 7.5 %
  en valor y 11.5 % en volumen en 2019. Lima,
  Perú: Junta Nacional del Café.
  https://juntadelcafe.org.pe/exportacion-decafe-peruano-disminuyo-7-5-en-valor-y-11-5en-volumen-en-2019/
- Kwaśniewska, P., Cofta, G. and Nowak, P.B. (2018).

  Resistance of fungal growth on Scots pine treated with caffeine, International Biodeterioration & Biodegradation, 132, 178-184.
  - https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0964830517309885?via%3Dihub
- Lugo-Melchor, O.Y. y Marino-Marmolejo, E.N. (2017). Inocuidad en Granos. Inocuidad y trazabilidad en los alimentos mexicanos. CIATEJ.
  - https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1023/636
- Luna, M., Lozada, Y. y Trigos, Á. (2010).

  Aislamiento de cepas de Aspergillus niger,
  productoras de ocratoxina A, en café verde
  (Coffea arabica) almacenado. Revista
  Mexicana de Micología, 32.
  http://www.scielo.org.mx/scielo.ph
  p?script=sci\_arttext&pid=S018731802010000200008#f43
- Mantana. M., Somsiri, S., Onuma, P., Wiphawee, L.,

- Henik, S. and Netnapis, K. (2021). Storage fungi and ochratoxin A associated with arabica coffee bean in postharvest processes in Northern Thailand. Food Control, 130. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.10835
- Márquez-Benavides, L., Saucedo-Martínez, B.C. y Sánchez-Yáñez, J.M. (2022). Detección de Aspergillus *fumigatus* en Hordeum vulgare comercializado en Morelia, Mich, México con potencial para sintetizar ocratoxina A. Journal Selva Andina Research Society, 13(1), 16-22. http://www.scielo.org.bo/pdf/jsars/v13n1/207 2-9294-jsars-13-01-16.pdf
- Martínez, E. (2003).Estudio especies micotoxígenas del género Penicillium: Penicillium verrucosum Dierckx doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona].
  - https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5 598/emb1de1.pdf?sequence=1&isAllowe d=y
- Montes-Belmont, R., Cruz-Cruz, V., Martínez-Martínez, G., Sandoval-García, G., García-Licona, R., Zilch-Domínguez, S., Bravo-Luna, L., Bermúdez-Torres, K., Flores- Moctezuma, H.E. y Carvajal-Moreno, M. (2000). Propiedades Antifúngicas en Plan-Análisis Superiores. Retrospectivo Investigaciones. Revista Mexicana de Fitopatología, 18(2), 125-131. https://www.redalyc.org/pdf/612/61218210.pd
- Norma Técnica Peruana ISO 4072:2016. (2016). Café verde en sacos: Muestreo. https://tiendavirtual.inacal.gob.pe/0/home\_tie nda.aspx.
- Norma Técnica Peruana ISO 6666:2013. (2018).

  Muestreo de café: Muestreadores para café verde o café crudo y café pergamino.

  <a href="https://tiendavirtual.inacal.gob.pe/0/home">https://tiendavirtual.inacal.gob.pe/0/home</a>

- Oliveros, T; Pabón, C.E. y Montoya, E.C. (2016).

  Evaluación de una alternativa para la conservación de la calidad en la comercialización del café húmedo. Revista Cenicafé, 67 (2), 86-95. https://www.cenicafe.org/es/publications/Revista\_Cenicaf%C3%A9\_67%282%29.pdf.
- Pitt, J. I. 1987. Penicillium viridicatum, Penicillium verrucosum, and production of ochratoxin A.

  Appl Environ Microbiol. 53 (2),
  266–269.

  http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerend er.fcgi.
- Puerta, G.I. y Pabón, J.P. (2018). Calidad física y sensorial del café cultivado en el paisaje cultural cafetero de Colombia en Caldas. Revista Cenicafé, 69 (1), 16-31. https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/1077 8/1089/1/arc069%2801%2916-31.pdf
- Rodríguez, J. (11 de octubre de 2006). Café y micotoxinas. Diario de la seguridad alimentaria.

  http://www.consumaseguridad.com/discapacit ados/es/investigacion/.

Rojas, L., Cajiao, A., Cárdenas, R. y Quevedo, H.

- (2015). Aislamiento de hongos en las diferentes etapas del beneficio de café cultivado y comercializado en Toledo, Norte de Santander. @LIMENTECH CIENCIA Y TECNOLOGÍA ALIMENTARIA, 13 (2), 96-107.

  http://revistas.unipamplona.edu.co/ojs\_vicein ves/index.php/ALIMEN/article/view/1875/10 38.
- Rosas, M., Trejo, S y Cerezo, M. (2004). Análisis de la microbiota en granos de café verde almacenado con énfasis en hongos productores de ocratoxina "A" (OTA). Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional, CIBA-IPN

- Tlaxcala, México. http://www.respyn.uanl.mx/especiales/ee-5-2004/cartel\_epidemilogia\_juany/04.htm.
- Tejeda, D.F., Vásquez, M., Ardón, C. y Cáceres, O. (2020). Guía para la preparación de microlotes de cafés especiales.

  http://191.103.79.102/xmlui/bitstream/handle/
  123456789/1219/Microlotes%20de%20cafe.p
  df?sequence=1
- Tirado, J. y Mattos, L.L. (2007, del 20 al 24 de mayo).

  Aislamiento de hongos fitopatógenos de granos de café (Coffea arabica L.)

  [conferencia]. XIV Congreso Latinoamericano de Fitopatología, Cancún, México.
- Xiong, K., Zhi, H., Liu, J., Wang, X., Zhao, Z., Pei, P., Deng, L. and Xiong, S. (2020). Detoxification of Ochratoxin A by a novel Aspergillus *oryzae* strain and optimization of its biodegradation. Revista Argentina de Microbiología, 53, 48-58. https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S032 5754120300547?token=6A23BCA83C9F965 A6A9159E68508327AD2AB4CE5E6DF7702 A0E20E75D86D60CA4BF6488EDDFC0C3F D85BF24596CF51C9&originRegion=us-east-1&originCreation=2022040521411
- Zichao, W., Ronghui, X., Jingwen, C., Jinpeng, W., Wenhui, F., Huiru, Z. and Xiaobei, Z. (2018). Antibacterial activity of a polysaccharide produced from Chaetomium globosum CGMCC 6882. International Journal of Biological Macromolecules, 125, 376-382. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813018360343