

Hongos productores de micotoxinas emergentes

M^a Lourdes Abarca, M^a Rosa Bragulat, Gemma Castellá, Francesc Accensi y F. Javier Cabañes

Departament Patologia i Producció Animals (Microbiologia). Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España

Resumen

Las micotoxinas son moléculas relativamente pequeñas con un estructura química y una actividad biológica muy diversa. Aunque suelen ser genotípicamente específicas para un grupo de especies, el mismo compuesto puede también ser elaborado por hongos pertenecientes a géneros distintos. La mayoría de las micotoxinas están producidas por especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Esta revisión se centrará en las aflatoxinas, ocratoxinas y fumonisinas por el riesgo que implican para la salud humana y animal. La producción de estas micotoxinas se asocia normalmente a un pequeño número de especies, pero estudios recientes han demostrado que otras especies son también capaces de elaborarlás. Estos resultados permiten afirmar que la capacidad toxigénica de algunas cepas es más amplia de lo que inicialmente cabría esperar, por lo que no puede descartarse la posibilidad de que nuevas especies puedan ser una nueva fuente de micotoxinas en su hábitat natural.

Palabras clave

Micotoxinas, Aflatoxinas, Ocratoxinas, Fumonisinás, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*

Mycotoxin producing fungi

Summary

Mycotoxins are relatively small molecules characterized by a diversity of chemical structure and a diversity of biological activity. They are often genotypically specific for a group of species, but the same compound can also be formed by fungi belonging to different genera. Most of the mycotoxins known have been recognized as metabolic products of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium* species. This review will be focused on aflatoxins, ochratoxins and fumonisins because of their hazard to animal and human health. The production of these mycotoxins have been usually associated with a small number of species but some recent studies have reported the production of these mycotoxins by some other species. These results show that mycotoxin production is broader than is normally thought, so the possibility can not be ruled out that new species may be a new source of unexpected mycotoxins in their natural substrates.

Key words

Mycotoxins, Aflatoxins, Ochratoxins, Fumonisinás, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*

Las micotoxinas son metabolitos secundarios fúngicos capaces de desencadenar diversas alteraciones y cuadros patológicos en el hombre y los animales. Son moléculas relativamente pequeñas ($P_m < 700$) y suelen ser genotípicamente específicas para un grupo de especies de un mismo género. El mismo compuesto, no obstante, puede ser también elaborado por hongos pertenecientes a géneros distintos. En general, cuanto más compleja es la ruta biosintética de una micotoxina, menor será el número de especies fúngicas capaces de elaborarla [1].

La mayoría de las micotoxinas descritas están producidas por especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Aunque el número de micotoxinas caracterizadas es muy grande, nos centraremos por su elevada toxicidad en el hombre y animales en las aflatoxinas, las ocratoxinas y las fumonisinas [2,3]. La producción de estas micotoxinas se asocia normalmente a un reducido número de especies. Así, las aflatoxinas están producidas por algunas especies del género *Aspergillus* sección *Flavi*, y las ocratoxinas por especies del género

Dirección para correspondencia:

Dra. Lourdes Abarca
Departament Patologia i Producció Animals
Facultat de Veterinària, UAB
08193 Bellaterra, Barcelona, España
Tel.: +34 93 581 1542; Fax: +34 93 581 2006
E-mail: Lourdes.Abarca@uab.es

Aspergillus sección *Circumdati* y por *Penicillium verrucosum*. Las fumonisinas, recientemente caracterizadas, están producidas principalmente por especies de *Fusarium* sección *Liseola*.

Estudios recientes han puesto de manifiesto la producción de estas micotoxinas por especies que hasta el momento no habían sido consideradas como productoras, lo que abre nuevas perspectivas en el estudio de la capacidad toxigénica de determinadas especies.

Aflatoxinas

Las aflatoxinas son sin lugar a dudas las micotoxinas más importantes. Se caracterizan por ser substancias hepatotóxicas, carcinogénicas, teratogénicas y mutagénicas. Están producidas por tres especies de la sección *Flavi*: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus nomius*. La diferenciación entre estas especies puede efectuarse en base a la producción de determinados metabolitos secundarios [4] (Tabla 1). Así, *A. flavus* produce sólo aflatoxinas B₁ y B₂, mientras que *A. parasiticus* produce aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂. La especie recientemente descrita *A. nomius* [5], es morfológicamente muy similar a *A. flavus* y se caracteriza por producir aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ y un metabolito exclusivo, la nominina. Algunos autores indican que en algunas colecciones internacionales de cultivos, diversas cepas de *A. parasiticus* son en realidad *A. flavus* y algunas cepas identificadas como *A. flavus* deberían denominarse *A. nomius* [6].

Tabla 1. Metabolitos secundarios elaborados por especies de *Aspergillus* sección *Flavi*.

Especie	Afl B	Afl G	ACP	AK	NOM
<i>A. flavus</i>	+	-	+	+	-
<i>A. parasiticus</i>	+	+	-	+	-
<i>A. nomius</i>	+	+	-	+	+
<i>A. oryzae</i>	-	-	+	+	-
<i>A. sojae</i>	-	-	-	+	-
<i>A. tamarii</i>	-	-	+	+	-

Afl B: aflatoxinas B₁ y B₂; Afl G: aflatoxinas G₁ y G₂; ACP: ácido ciclopiazónico; AK: ácido kójico; Nom: nominina.

En la tabla 1 se incluyen también *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae* y *Aspergillus tamarii* por ser especies que se utilizan en la industria de la fermentación de alimentos y se consideran "seguras" ya que no producen aflatoxinas. Los estudios moleculares realizados ponen de manifiesto que *A. oryzae* es una "forma domesticada" de *A. flavus* y *A. sojae* lo es de *A. parasiticus*, por lo que representarían en realidad una especie única [7]. *A. tamarii* en cambio, es una especie morfológicamente distinta a las anteriores [5] que produce ácido kójico y ácido ciclopiazónico entre otros metabolitos secundarios.

Los resultados publicados recientemente por algunos investigadores han modificado el panorama aceptado desde 1987 en lo que respecta a la producción de aflatoxinas. Así, en 1996 Goto *et al.* [8] describieron por primera vez la producción de aflatoxinas B₁, B₂ y ácido ciclopiazónico en una cepa de *A. tamarii* y posteriormente [9] al examinar 45 cepas de colección identificadas como *A. tamarii*, detectaron cuatro cepas productoras de aflatoxinas B₁ y B₂. En 1995, Horn y Greene [10], basándose en caracteres morfológicos distinguieron dos tipos de aislamientos de *A. tamarii* (denominados A y B). Posteriormente, los aislamientos del tipo B constituyeron la nueva especie *Aspergillus caelatus* [11], caracterizada

por producir ácido kójico y nunca ácido ciclopiazónico (a diferencia de *A. tamarii* que produce ambos metabolitos). Los estudios filogenéticos realizados [12] parecen demostrar que *A. caelatus* y *A. tamarii* son especies distintas, y que las cepas de *A. tamarii* aflatoxigénicas serían en realidad variedades de *A. caelatus*. De esta manera, *A. tamarii* (especie ampliamente utilizada en la elaboración de alimentos orientales) puede todavía ser considerada como una especie no aflatoxigénica, aunque dichos autores destacan que las cepas aflatoxigénicas de *A. caelatus* pueden ser fácilmente identificadas como *A. tamarii* siguiendo los criterios morfológicos de identificación de Raper y Fenell [13].

Todavía dentro de la sección *Flavi*, se ha citado en Argentina [14] el aislamiento de tres cepas inicialmente identificadas como *A. flavus*, pero con capacidad de producir aflatoxinas B y G además de ácido ciclopiazónico. Esta combinación de metabolitos secundarios no ha sido citada anteriormente y posiblemente será descrita como una nueva especie.

Desde el descubrimiento de las aflatoxinas, también se han ido produciendo descripciones de otras especies no incluidas en la sección *Flavi* con capacidad de elaborarlás (Tabla 2). En nuestro laboratorio hemos podido también detectar la producción de aflatoxina B₁ en especies pertenecientes a cuatro secciones distintas a la sección *Flavi* [15]: *Aspergillus (Eurotium amstelodami, Eurotium chevalieri, Eurotium rubrum)*, *Fumigati (Aspergillus fumigatus)*, *Terrei (Aspergillus terreus)* y *Candidi (Aspergillus candidus)*. La capacidad de producción de aflatoxinas por algunas especies de la sección *Aspergillus* ha sido también demostrada por otros autores [16-20]. No hemos encontrado en cambio referencias sobre la producción de aflatoxinas en especies de la sección *Terrei*, y las que citan la producción de estas micotoxinas en la sección *Fumigati* y *Candidi* no son muy concisas, ya que únicamente lo mencionan como una posibilidad no confirmada [21,22].

La producción de aflatoxinas también ha sido mencionada por diversos autores en especies pertenecientes a las secciones: *Nidulantes* [17], *Versicolores* [23], *Wentii* [16], *Nigri* [16,23-25] y *Circumdati* [26-28].

Ocratoxina A

Las ocratoxinas son el primer grupo de micotoxinas caracterizadas después de las aflatoxinas y están recibiendo una especial atención en todo el mundo por su marcado carácter nefrotóxico. Estudios recientes han demostrado que la ocratoxina A (OA) posee además propiedades carcinogénicas, teratogénicas e inmunotóxicas [2,29].

Desde su descubrimiento en 1965 la producción de esta micotoxina se asocia en el género *Aspergillus* a siete especies de la sección *Circumdati*: *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus alliaceus*, *Aspergillus melleus*, *Aspergillus ostianus*, *Aspergillus petrakii*, *Aspergillus sclerotiorum* y *Aspergillus sulphureus*. Recientemente se ha descrito la producción de OA por otras dos especies de la sección: *Aspergillus albertensis* y *Aspergillus auricomus* [30].

Tal como se observa en la tabla 2, la producción de esta micotoxina ha sido citada en otras especies del género *Aspergillus* pertenecientes a otras secciones. En nuestro laboratorio describimos la capacidad productora de OA en *Aspergillus niger* var. *niger* [31], característica confirmada también por otros autores en distintos miembros de la sección *Nigri* [32-36]. La posible capacidad de *A. niger* de elaborar OA supone un riesgo inesperado para la salud

Tabla 2. Referencias bibliográficas en las que se citan especies del género *Aspergillus* productoras de aflatoxinas (exceptuando las de la sección *Flavi*) y de ocratoxina A (OA) (exceptuando las de la sección *Circumdati*).

	Aflatoxinas	OA		Aflatoxinas	OA
Sección <i>Aspergillus</i>			Sección <i>Wentii</i>		
<i>Eurotium amstelodami</i>	15*	15*	<i>A. wentii</i>	16	30
<i>E. chevalieri</i>	15*,18		Sección <i>Nigri</i>		
<i>E. herbariorum</i>	20	39	<i>A. carbonarius</i>	23	34,35,36
<i>E. repens</i>	18		<i>A. japonicus</i>	23	
<i>E. rubrum</i>	15*,16,18,19		Agregado <i>A. niger</i>		
<i>Eurotium</i> spp.	17		<i>A. niger</i>	16,23,24,25	31*,35
Sección <i>Fumigati</i>			<i>A. ficuum</i>	23	
<i>A. fumigatus</i>	15*,21	37*,38	<i>A. usamii</i>		33
			<i>A. awamori</i>		33,35
			<i>A. foetidus</i>		32,35
Sección <i>Nidulantes</i>			Sección <i>Circumdati</i>		
<i>Emericella rugulosa</i>	17		<i>A. ochraceus</i>	26	
Sección <i>Versicolores</i>			<i>A. ostianus</i>	27	
<i>A. versicolor</i>	23	37*	<i>A. ochraceoroseus</i>	28	
<i>A. sydowii</i>		32	Sección <i>Candidi</i>		
Sección <i>Usti</i>			<i>A. candidus</i>	15*,22	
<i>A. ustus</i>		32			
Sección <i>Terrei</i>					
<i>A. terreus</i>	15*	32			

* Aislamientos detectados en nuestro laboratorio

humana y animal, puesto que es una especie ampliamente utilizada en la industria alimentaria y posee el status GRAS (*generally recognized as safe*) de la FDA.

En la sección *Fumigati*, hemos descrito la producción de OA en una cepa de *A. fumigatus* y en una cepa de *Aspergillus versicolor* (sección *Versicolores*) [37]. La producción de esta micotoxina en *A. fumigatus* había sido ya citada [38], y en la sección *Versicolores*, se había descrito en *A. sydowii* [32]. En la sección *Aspergillus* aislamos una cepa de *Eurotium amstelodami* capaz de producir OA [15]. La capacidad ocratoxigénica en esta sección ha sido citada en *Eurotium herbariorum* [39].

La producción de OA ha sido también mencionada en otras especies del género *Aspergillus* incluidas en las secciones *Wentii* [30], *Usti* y *Terrei* [32].

Aunque la OA se describió inicialmente como un metabolito de *A. ochraceus*, se detectó poco después también en *Penicillium viridicatum* [41] y posteriormente en otras especies, en algunos casos no siempre correctamente identificadas dada la complejidad taxonómica de este género. En la actualidad, se ha confirmado que los aislamientos que fueron identificados como *P. viridicatum* productoras de OA y citrinitina son en realidad *P. verrucosum* [42]. Como consecuencia de la falta de definición de las especies *P. viridicatum* y *P. verrucosum*, todavía hoy se cita en diversas revisiones a la especie *P. viridicatum* como productora de OA.

A lo largo de los últimos años, otras especies del género *Penicillium* se han visto también involucradas en la producción de OA (Tabla 3). En el subgénero *Penicillium* se ha descrito la producción de OA en *Penicillium brevicompactum* [43], *Penicillium chrysogenum* [20,44-46,48] y *Penicillium expansum* [43,46,48], especies morfológicamente distintas de *P. verrucosum* a pesar de pertenecer al mismo subgénero. También se ha descrito la producción de OA en *Penicillium aurantiogriseum* [47-49] y *Penicillium cyclopium* [20,44,45], especies incluidas actualmente en el complejo *P. aurantiogriseum*, al que también pertenecen *P. verrucosum* y *P. viridicatum*. Asimismo, la producción de esta micotoxina ha sido descrita en especies morfológicamente

muy diferentes a *P. verrucosum* incluidas en los subgéneros *Aspergilloides* [20,32,44,46,50], *Biverticillium* [32,40,44,51] y *Furcatum* [32]. Ueno *et al.* [32] también citan distintas especies del género *Eupenicillium* como ocratoxigénicas.

Tabla 3. Referencias bibliográficas en las que se citan especies del género *Penicillium* productoras de ocratoxina A (exceptuando *P. verrucosum*).

Subgénero <i>Aspergilloides</i>	
<i>P. purpurescens</i>	44,46,50
<i>P. implicatum</i> , <i>P. montanense</i> , <i>P. sclerotiorum</i>	32
<i>P. glabrum</i>	20
Subgénero <i>Biverticillium</i>	
<i>P. variable</i>	40,44,51
<i>P. purpurogenum</i> , <i>P. verruculosum</i>	32
Subgénero <i>Furcatum</i>	
<i>P. canescens</i> , <i>P. janczewskii</i> , <i>P. melinii</i> , <i>P. miczynskii</i>	32
<i>P. raistrickii</i> , <i>P. corylophilum</i>	32
Subgénero <i>Penicillium</i>	
<i>P. aurantiogriseum</i>	47,48,49
<i>P. brevicompactum</i>	43
<i>P. cyclopium</i>	20,44,45
<i>P. chrysogenum</i>	20,44,45,46,48
<i>P. expansum</i>	43,46,48

Fumonisin

Las fumonisin son una nueva clase de micotoxinas estructuralmente relacionadas que han sido recientemente caracterizadas a partir de cultivos de maíz de *Fusarium moniliforme* en Sudáfrica [52]. Se ha demostrado que la fumonisin B₁ es la responsable de la leucoencefalomalacia equina y el edema pulmonar porcino. Asimismo se ha citado su capacidad hepatotóxica y hepatocarcinogénica en ratas, y se ha correlacionado estadísticamente su presencia en alimentos con la prevalencia de cáncer de esófago en el hombre [53,54].

De todas las fumonisinas caracterizadas hasta el momento, las denominadas B₁ y B₂ son las que suelen detectarse en concentraciones más elevadas en el maíz contaminado. Su producción parece estar limitada mayoritariamente a especies del género *Fusarium* y en especial a la sección *Liseola*. La principal productora es *Fusarium moniliforme*, una de las especies aisladas con mayor frecuencia en el maíz y sus subproductos. Otras especies productoras en esta sección son *Fusarium proliferatum* y en menor grado *Fusarium anthophilum*. *Fusarium globosum*, una de las dos especies recientemente descritas en la sección *Liseola*, ha demostrado también ser productora de fumonisinas [55]. Dentro de la sección *Dlaminia* se describen también como especies productoras a *F. nygamai*, *F. dlamini* y *F. napiforme*.

La fumonisina B₁ se identificó como una nueva clase de micotoxina, pero su estructura es muy similar a las fitotoxinas AAL o alpersinas, responsables del cancro del tallo en el tomate y producidas por *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. En 1992 se describió en este hongo la producción de fumonisina B₁ [56] y posteriormente de fumonisinas B₂ y B₃ [57].

Capacidad toxigénica

Dentro de una especie considerada potencialmente toxigénica, el porcentaje de cepas productoras puede ser muy distinto según la micotoxina. La producción de un determinado metabolito secundario dependerá no sólo del genotipo de la cepa sino también de toda una serie de factores ambientales que van a ejercer su influencia sobre el crecimiento y metabolismo de la cepa.

En el caso de las fumonisinas llama poderosamente la atención el elevado porcentaje de aislamientos toxigénicos, por lo que puede considerarse una característica general de las especies productoras [59,60]. En los estudios realizados en nuestro laboratorio, el porcentaje de aislamientos con capacidad de elaborar fumonisina B₁ ha sido siempre superior al 94% para la especie *F. moniliforme*, llegando al 100% para la especie *F. proliferatum* [60-62]. En otros estudios realizados en nuestro país, este porcentaje es inferior en el caso de la especie *F. moniliforme* [63,64].

Para las restantes micotoxinas aquí comentadas, el porcentaje de cepas toxigénicas es marcadamente inferior. Si consideramos las cepas de *A. flavus* capaces de producir aflatoxinas, a pesar de que algunos autores indican que aproximadamente el 40% de los aislamientos son aflatoxigénicos, existen importantes variaciones geográficas y estacionales. En la mayoría de estudios realizados en nuestro país en los últimos años, el porcentaje de cepas productoras es inferior al 15% [65-69]. En cambio, el porcentaje de aislamientos de *A. parasiticus* y *A. nomius* aflatoxigénicos es muy elevado [4].

En el caso de las ocratoxinas, diversos autores han señalado la baja incidencia de cepas toxigénicas de *A. ochraceus*, inferior al 25% [37,47,70,71]. Para *P. verrucosum*, el porcentaje descrito oscila entre el 56% [42] y el 96% [72].

Merece la pena señalar que en muchos casos, para las especies no consideradas como típicamente productoras de micotoxinas comentadas anteriormente, el porcentaje de cepas toxigénicas detectado es similar al esperado en las especies consideradas como productoras.

Estabilidad en la capacidad toxigénica

La producción de micotoxinas suele ser una propiedad característica de un aislamiento, pero en algunos casos la capacidad de síntesis de un determinado metabolito secundario puede ser transitoria ya que se observa normalmente en cultivos que han sido recientemente aislados de su hábitat natural y puede perderse como consecuencia de su manejo en el laboratorio [17,73,74]. Esto podría explicar la extrema cautela y recelo de algunos investigadores con respecto a las aportaciones de nuevas especies productoras de una determinada micotoxina, ya que no siempre puede ser comprobada por otros laboratorios.

Si nos centramos en las cepas no consideradas como típicamente productoras aisladas en nuestro laboratorio (Tabla 2 [15]), hemos podido comprobar que con el tiempo no ha resultado ser una característica estable la capacidad de sintetizar OA por *E. amstelodami*, ni la capacidad de producir aflatoxinas en ninguno de los aislamientos citados. Por el contrario, la capacidad de elaboración de OA por parte de *A. niger* var. *niger* [31] ha mostrado ser una característica estable que ha permitido que otros investigadores hayan podido confirmar nuestros resultados de forma independiente [35].

Conclusiones

Todos estos resultados ponen de manifiesto que la capacidad micotoxigénica de los hongos es mayor de lo que inicialmente cabría esperar. A pesar de la poca estabilidad observada a veces en la producción de una micotoxina en condiciones de laboratorio, no se puede descartar la posibilidad de que especies que hasta ahora no han sido consideradas como potencialmente toxigénicas puedan ser una nueva fuente de micotoxinas en su hábitat natural.

Los autores agradecen a la CICYT (ALI98-0509-CO4-02) la financiación aportada.

Bibliografía

- Moss, MO. The environmental factors controlling mycotoxin formation. En: Smith JE, Henderson RS (Eds.) *Mycotoxins and animal foods*. Boca Raton, CRC Press Inc, 1991: 37-56.
- Pohland AE. Mycotoxins in review. *Food Addit Contam* 1993; 10: 17-28.
- Moss MO. Centenary Review. *Mycotoxins*. *Mycol Res* 1996; 100: 513-523.
- Frisvad JC, Samson RA. Mycotoxins produced by species of *Penicillium* and *Aspergillus*. En: Chelkowski J (Ed.) *Cereal Grain. Mycotoxins, Fungi and Quality in Drying and Storage*. Amsterdam, Elsevier, 1991: 441-476.
- Kurtzman CP, Horn BW, Hesselstine CW. *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*. *Antonie van Leeuwenhoek* 1987; 53: 147-158.
- Kozakiewicz Z. *Aspergillus* toxins and taxonomy. En: Powell KA, Renwick A, Peberdy JF (Eds.) *The Genus Aspergillus* 1994. New York, Plenum Press, 1994: 303-311.
- Kurtzman CP, Smiley MJ, Robnett CI, Wicklow DT. DNA relatedness among wild and domesticated species in the *Aspergillus flavus* group. *Mycologia* 1986; 78: 955-959.
- Goto T, Wicklow DT, Ito Y. Aflatoxin and cyclopiazonic acid production by a sclerotium-producing *Aspergillus tamarii* strain. *Appl Environ Microbiol* 1996; 62: 4036-4038.
- Goto T, Ito Y, Peterson S W, Wicklow D T. Mycotoxin producing ability of *Aspergillus tamarii*. *Mycotoxins* 1997; 44: 17-20.
- Horn BW, Greene RL. Vegetative compatibility within populations of *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* and *A. tamarii* from a peanut field. *Mycologia* 1995; 87: 324-332.
- Horn BW. *Aspergillus caelatus*, a new species in section *Flavi*. *Mycotaxon* 1997; 61: 185-191.
- Peterson SW, Horn BW, Ito Y, Goto T. Genetic variation and aflatoxin production in *Aspergillus tamarii* and *A. caelatus*. Abstracts of the Third International Workshop on *Penicillium* and *Aspergillus*, Baarn, 1997.
- Raper KB, Fennell DI. The genus *Aspergillus*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1965.
- Vaamonde G, Pitt JI. Simultaneous production of cyclopiazonic acid and aflatoxins type B and G by *Aspergillus* section *Flavi* isolated from peanuts in Argentina. Abstracts of the Third International Workshop on *Penicillium* and *Aspergillus*, Baarn 1997.
- Abarca ML, Bragulat MR, Accensi F, Castellá G, Cabañes FJ. Unexpected mycotoxin production in *Aspergillus* species. Abstracts of the Third International Workshop on *Penicillium* and *Aspergillus*, Baarn 1997.
- Kulik MM, Holaday CE. Aflatoxin: a metabolic product of several fungi. *Mycopathol Mycol Appl* 1966; 30: 137-140.
- Schroeder HW, Kelton WH. Production of sterigmatocystin by some species of the genus *Aspergillus* and its toxicity to chicken embryos. *Appl Microbiol* 1975; 30: 589-591.
- Leitao J, de Saint-Blanquat G, Bailly JR. Action of phosphine on production of aflatoxins by various *Aspergillus* strains isolated from foodstuffs. *Appl Environ Microbiol* 1987; 53: 2328-2331.
- Leitao J, Le Bars J, Bailly JR. Production of aflatoxin B₁ by *Aspergillus ruber* Thom and Church. *Mycopathologia* 1989; 108: 135-138.
- Vázquez-Belda B, Fente-Sampayo CA, Quinto-Fernández E, Franco-Abuín C, Rodríguez-Otero JL, Cepeda-Saez A. Incidencia de hongos toxigénicos en que serías de la zona de Arzúa (La Coruña, España). *Food Sci Technol Int* 1995; 1: 91-95.
- Aziz NH, Youssef YA. Occurrence of aflatoxins and aflatoxin-producing moulds in fresh and processed meat in Egypt. *Food Addit Contam* 1991; 8: 321-331.
- Jayaraman P, Kalyanasundaram I. Natural occurrence of toxigenic fungi and mycotoxins in rice bran. *Mycopathologia* 1990; 110: 81-85.
- Masimango N, Ramaut JL, Remacle J. Aflatoxines et champignons toxigènes dans des denrées alimentaires zairoises. *Rev Ferm Ind Alim* 1977; 32: 164-170.
- Glinsukon T, Romruen K, Visutasunthorn C. Preliminary report on toxigenic fungal isolates of *Aspergillus niger* in market foods and foodstuffs. *Experientia* 1979; 35: 522-523.
- Ibrahim MMK Ahmed FH, Guergues SN. Mycotoxic studies on some Egyptian foodstuffs. Part I: Effect of some storage factors on the occurrence of aflatoxins in some Egyptian onion bulbs. *Grasas y Aceites* 1990; 41: 149-153.
- Van Walbeek W, Scott PM, Thatcher FS. Mycotoxins from food-borne fungi. *Can J Microbiol* 1968; 14: 131-137.
- Scott PM, van Walbeek W, Forgacs J. Formation of aflatoxins by *Aspergillus ostianus* Wehmer. *Appl Microbiol* 1967; 15: 945.
- Frisvad JC, Larsen TO, Smedsgaard J, Samson RA. New producers of aflatoxin. Abstracts of the Third International Workshop on *Penicillium* and *Aspergillus*, Baarn 1997.
- Kuiper-Goodman T, Scott PM. Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A. *Biomed Environ Sci* 1989; 2: 179-248.
- Varga J, Kevei E, Rinyu E, Teren J, Kozakiewicz Z. Ochratoxin production by *Aspergillus* species. *Appl Environ Microbiol* 1996; 62: 4461-4464.
- Abarca ML, Bragulat MR, Castellá G, Cabañes FJ. Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60: 2650-2652.
- Ueno Y, Kawamura O, Sugiura Y, et al. Use of monoclonal antibodies, enzyme-linked immunosorbent assay and immunoaffinity column chromatography to determine ochratoxin A in porcine sera, coffee products and toxin-producing fungi. En: Castegnaro M, Plestina R, Dirheimer G, Chernozemsky IN, Bartsch H (Eds.). *Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours*. Lyon, IARC Sci. Publ. No. 115, 1991: 71-75.
- Ono H, Kataoka A, Koakutsu M, et al. Ochratoxin A producibility by strains of *Aspergillus niger* group stored in IFO culture collection. *Mycotoxins* 1995; 41: 47-51.
- Horie Y. Productivity of ochratoxin A of *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus* section *Nigri*. *Nippon Kingakai Kaiho* 1995; 36: 73-76.
- Téren J, Varga J, Hamari Z, Rinyu E, Kevei F. Immunochemical detection of ochratoxin A in black *Aspergillus* strains. *Mycopathologia* 1996; 134: 171-176.
- Wicklow DT, Dowd P F, Alfataifa AA, Gloer JB. Ochratoxin A: an antiinsectan metabolite from the sclerotia of *Aspergillus carbonarius* NRRL 369. *Can J Microbiol* 1996; 42: 1100-1103.
- Abarca ML, Bragulat MR, Castellá G, Accensi F, Cabañes FJ. New ochratoxigenic species in the *Aspergillus* genus. *J Food Prot* 1997; 60: 1580-1582.
- Szebiotko K, Chelkowski J, Dopierala G, Godlewska B, Radomska W. Mycotoxins in cereal grain. Part I. Ochratoxin, citrinin, sterigmatocystin, penicillic acid and toxigenic fungi in cereal grain. *Die Nahrung* 1981; 25: 415-421.
- Chelkowski J, Samson RA, Wiewiorowska M, Golinski P. Ochratoxin A formation by isolated strains of the conidial stage of *Aspergillus glaucus* Link ex Grey (= *Eurotium herbariorum* Wiggers Link ex Gray) from cereal grains. *Die Nahrung* 1987; 4: 267-269.
- Sanchis V, Viñas I, Jiménez M, Calvo MA, Hernández E. Mycotoxin-producing fungi isolated from bin-stored corn. *Mycopathologia* 1982; 80: 89-93.
- Van Walbeek W, Scott PM, Harwig J, Lawrence JW. *Penicillium viridicatum* Westling: a new source of ochratoxin A. *Can J Microbiol* 1969; 15: 1281-1285.
- Pitt JI. *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum* and production of ochratoxin A. *Appl Environ Microbiol* 1987; 53: 266-269.
- Kozakiewicz Z, Paterson RRM, Bridge PD. Novel approaches to the identification of mycotoxin producing *Penicillium* species. In: Scudamore (Ed.). *Occurrence and significance of mycotoxins*. London, Central Science Laboratory, 1993: 64-75.
- Leistner L, Pitt JI. Miscellaneous *Penicillium* toxins. En: Rodricks JV, Hesselstine CW, Mehlmann MA (Eds.). *Mycotoxins in human and animal health*. Park Forest South IL, Pathotox Publishers, 1977: 639-653.
- Mills JT, Abramson D. Ochratoxigenic potential of *Penicillium* spp. Isolated from stored rapeseed and cereals in western Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology* 1982; 4:37-41.
- Krivobok S, Seigle-Murandi F, Steiman R, Marzin D. Screening methods to detect toxigenic fungi in liquid medium. *Jof Microbiol Methods* 1987; 7: 29-36.
- Mantle PG, McHugh KM. Nephrotoxic fungi in foods from nephropathy households in Bulgaria. *Mycol Res* 1993; 97: 205-212.
- Mills JT, Abramson D, Frohlich AA, Marquardt RR. Citrinin and ochratoxin A production by *Penicillium* spp. from stored durum wheat. *Canadian Journal of Plant Pathology* 1989; 11: 357-360.
- Krivobok S, Seigle-Murandi F, Steiman R, Creppy E E. Fungal flora and ochratoxin A production in various food and feed in France. *System Appl Microbiol* 1995; 18: 455-459.
- El-Banna AA, Pitt JI, Leistner L. Production of mycotoxins by *Penicillium* species. *System Appl Microbiol* 1987; 10:42-46.
- Jiménez M, Sanchis V, Mateo R, Hernández E. *Penicillium* pre-harvest corn in Valencia (Spain) II. Study of the enzymatic and toxicogenic capacities of the species. *Mycopathologia* 1986; 96: 13-18.
- Bezuidenhout SC, Gelderblom WCA, Gorst-Allman CP, et al. Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *J Chem Soc Chem Commun* 1988; 743-745.
- Norred WP. Fumonisin-mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. *J Toxicol Environ Health* 1993; 38: 309-328.
- Marasas WFO. Fumonisin: History, world-wide occurrence and impact. En: Jackson LS, DeVries JW, Bullerman LB (Eds.). *Fumonisin in food*. New York, Plenum Press, 1996: 1-17.
- Sydenham EW, Shephard GS, Stockenström S, Rheeder JP, Marasas WFO, van der Merwe MJ. Production of fumonisin B analogues and related compounds by *Fusarium globosum*, a newly described species from corn. *J Agr Food Chem*. 1997; 45: 4004-4010.
- Chen J, Mirocha CJ, Xie W, Hogge L, Olson D. Production of the mycotoxin fumonisin B₁ by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Appl Environ Microbiol* 1992; 58: 3928-3931.
- Mirocha CJ, Chen J, Xie W, Xu Y, Abbas HK, Hogge LR. Biosynthesis of fumonisin and AAL derivatives by *Alternaria* and *Fusarium* in laboratory culture. En: Jackson LS, DeVries JW, Bullerman LB (Eds.). *Fumonisin in food*. New York, Plenum Press, 1996: 213-224.
- Ross PF, Nelson PE, Richard JL, et al. Production of fumonisins by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*

- associated with equine leukoencephalomalacia and a pulmonary edema syndrome in swine. *Appl Environ Microbiol* 1990; 56: 3225-3226.
59. Nelson PE, Plattner RD, Shackelford DD, Desjardins AE. Production of fumonisins by *Fusarium moniliforme* strains from various substrates and geographic areas. *Appl Environ Microbiol* 1992; 58: 984-989.
 60. Cabañes FJ, Abarca ML, Bragulat MR, Castellá G. High incidence of fumonisin-producing strains of *Fusarium moniliforme* isolated in Spain. En: Scudamore KA (Ed.). Occurrence and significance of mycotoxins, London, Central Science Laboratory, 1993: 293-296.
 61. Castellá G, Bragulat MR, Cabañes FJ. Mycoflora and fumonisin-producing strains of *Fusarium moniliforme* in mixed poultry feeds and component raw material. *Mycopathologia* 1996; 133: 181-184.
 62. Castellá G, Bragulat MR, Cabañes FJ. Occurrence of *Fusarium* species and fumonisins in some animal feeds and raw materials. Proceedings of the Fifth European *Fusarium* seminar. *Cereal Res Com* 1997; 25: 355-356.
 63. Sala N, Sanchis V, Vilaro P, *et al*. Fumonisin producing capacity of *Fusarium* strains isolated from cereals in Spain. *J Food Prot* 1994; 57: 915-917.
 64. Sanchis V, Abadías M, Oncins L, Sala N, Viñas I, Canela R. Fumonisin B1 and B2 and toxigenic *Fusarium* strains in feeds from the Spanish market. *International J Food Microbiol* 1995; 27: 37-44.
 65. Abarca ML, Bragulat MR, Castellá G, Cabañes FJ. Mycoflora and aflatoxin-producing strains in animal mixed feeds. *J Food Prot* 1994; 57: 256-258.
 66. Viñas I, Sibilía A, Sala N, Sanchis V, Visconti A. Mycotoxins and toxigenic species incidence in oilseed rape. *Food Control* 1993; 4:79-82.
 67. Viñas I, Palma J, Garza S, Sibilía A, Sanchis V, Visconti A. Natural occurrence of aflatoxins and *Alternaria* mycotoxins in oilseed rape from Catalonia (Spain): Incidence of toxigenic strains. *Mycopathologia* 1994; 128: 175-179.
 68. Sanchis V, Sanclemente A, Usall J, Viñas I. Incidence of mycotoxigenic *Alternaria alternata* and *Aspergillus flavus* in barley. *J Food Prot* 1993; 56: 246-248.
 69. Sanchis V, Balcells X, Torres M, Sala N, Viñas I, Canela R. A survey of aflatoxins and aflatoxigenic *Aspergillus flavus* in corn-based products from the Spanish market. *Microbiol Res* 1995; 150: 437-440.
 70. Mislivec PB, Dieter CT, Bruce VR. Mycotoxin-producing potential of mold flora of dried beans. *Appl Microbiol* 1975; 29: 522-526.
 71. Jimenez M, Mateo R, Querol A, Huerta T, Hernandez E. Mycotoxins and mycotoxigenic moulds in nuts and sunflower seeds for human consumption. *Mycopathologia* 1991; 115: 121-127.
 72. Frisvad JC, Filtenborg O. Terverticillate penicillia: chemotaxonomy and mycotoxin production. *Mycologia* 1989; 81: 837-861.
 73. Mayne RY, Bennett JW, Tallant J. Instability of an aflatoxin-producing strain of *Aspergillus parasiticus*. *Mycologia* 1971; 63: 644-648.
 74. Wilson BJ, Campbell TC, Hayes AW, Hanlin RT. Investigation of reported aflatoxin production by fungi outside the *Aspergillus flavus* group. *Appl Microbiol* 1968; 16: 819-821.