

---

# Mohos productores de micotoxinas.

# 2

**Héctor Morales Valle.**

IBB/Centre for Biological Engineering.

Universidade do Minho. Campus de Gualtar. 4710 Braga, Portugal.

hmorales@deb.uminho.pt

## 2.1. El reino Fungi.

Un hongo es un miembro del reino *Fungi*. Son organismos eucariotas porque sus células tienen un núcleo que contiene los cromosomas y se encuentra limitado por una membrana nuclear. Sus células tienen, al igual que la de las plantas, pared celular (cuyo componente principal es la quitina, y no la celulosa como en la célula vegetal) y son heterótrofos, porque, a diferencia de éstas, se alimentan de materia orgánica. La gran mayoría de las especies crecen como filamentos pluricelulares llamados hifas. El conjunto de hifas se denomina micelio, aunque algunas especies de hongos son unicelulares. Organismos tan dispares morfológicamente como las setas, las levaduras y los mohos pertenecen al reino *Fungi*. Una primera clasificación dentro de este reino es la que diferencia entre los llamados hongos verdaderos (los mixomicetos, entre los que se incluyen los mohos) y los oomicetos.

Los hongos están extendidos por todo el mundo viviendo en el suelo, materia en descomposición, en simbiosis con plantas, animales u otros hongos. Tienen un papel muy importante en los ecosistemas, participando en la descomposición de la materia orgánica. Muchas de sus especies han sido utilizadas como fuente de alimentación para los seres humanos, como las setas y las trufas, y en la fermentación de alimentos para su transformación, como en el caso del vino, la cerveza o los quesos. Los hongos también se utilizan para obtener antibióticos y enzimas de importancia para la industria de la alimentación, farmacológica, de detergentes, etc.

En referencia al tema de este libro, muchos hongos producen compuestos biológicamente activos, muchos de ellos tóxicos para plantas y animales, incluidos los seres humanos. Estas sustancias son conocidas como micotoxinas. Un ejemplo es la amatoxina, una micotoxina producida por algunas setas del género *Amanita*. Sin embargo, de particular relevancia para este capítulo son las micotoxinas producidas por los mohos filamentosos causantes de podredumbres en productos alimenticios. Cuando en un sustrato (ya sea un cereal, una fruta o un alimento elaborado) crece un moho, existe el riesgo de que haya una contaminación por micotoxinas. Si el alimento contaminado por micotoxinas es ingerido, puede desencadenar una micotoxicosis, es

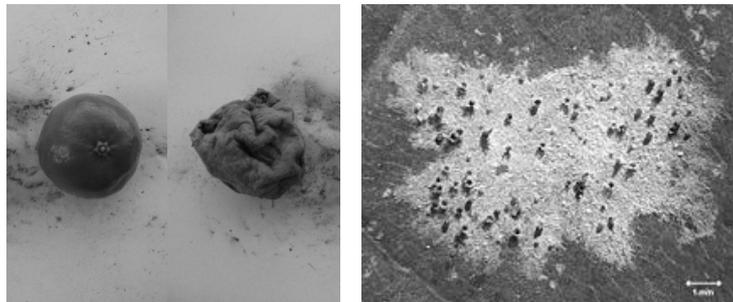
decir, una intoxicación que puede afectar a diferentes órganos como el hígado, los riñones o el cerebro y puede conducir a la muerte.

La taxonomía del reino *Fungi* se encuentra en constante cambio, sobre todo debido a los continuos avances en Biología Molecular que permiten el análisis y la secuenciación del material genético de las diferentes especies. Estos estudios, como se comentará más adelante, han permitido separar especies que se consideraban como únicas y delimitar seis grupos diferentes denominados *filae* (James et al., 2006).

Los mohos no forman un grupo taxonómico o filogenético, sino que se engloban en dos *filae*: Zigomicetos y Ascomicetos. Existen autores que describen otra *fila*: los Deuteromicetos, destinada a englobar aquellos hongos de los cuales no se conoce fase sexual (llamados por ello, hongos imperfectos). Sin embargo, esta clasificación es fuente de controversia. En este capítulo nos ocuparemos especialmente de los hongos Ascomicetos, pues comprenden las especies de mohos micotoxigénicos más importantes: *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*.

Como se ha comentado anteriormente, los mohos son hongos que crecen en forma de filamentos multicelulares llamados hifas, al contrario de las levaduras, que son hongos unicelulares. Un conjunto de hifas interconectadas con varios núcleos idénticos se denomina micelio. Aunque los mohos crecen en la materia orgánica en la naturaleza, su presencia sólo se puede percibir cuando se han formado colonias visibles a simple vista (Figura 2.1.).

Algunos mohos atacan cultivos y plantas ornamentales, otros causan podredumbre en alimentos o productos básicos utilizados para la elaboración de alimentos, casi todos juegan un papel importante en la biodegradación natural de materia orgánica y unos pocos son utilizados en la producción de alimentos, bebidas, antibióticos y enzimas.



**Figura 2.1.- Ataque a una mandarina por *Penicillium* (izda.) y oidio en rosal.**

Existen millares de especies de mohos conocidas, incluyendo mohos patógenos (oportunistas o no), saprófitos, especies acuáticas, termófilas, etc. Como se ha comentado anteriormente, los mohos (como todos los organismos del reino *Fungi*) no poseen clorofila, por lo que obtienen la energía que precisan para fabricar sus estructuras, no a través de la fotosíntesis sino de la materia orgánica sobre la que

viven. Normalmente, los mohos secretan enzimas hidrolíticas que son capaces de degradar carbohidratos complejos como el almidón, la celulosa y la lignina, transformándolos en sustancias más simples que pueden ser absorbidas por las hifas. Es así cómo los mohos juegan un papel importante en la descomposición de la materia orgánica, permitiendo de este modo el reciclaje de nutrientes en un ecosistema.

Los mohos se reproducen por esporas, que pueden ser unicelulares o pluricelulares. Las esporas también puede ser asexuales (por tanto son producto de mitosis celular) o sexuales (producto de división celular por meiosis). Muchas especies producen los dos tipos de esporas. Sin embargo, los anteriormente citados hongos imperfectos no tienen fase sexual conocida y por tanto sólo producen, que se sepa, esporas de tipo asexual. Las esporas de los mohos pueden permanecer en el ambiente durante un tiempo muy prolongado (algunos autores aseguran que incluso de forma indefinida), y pueden soportar temperaturas y presiones extremas para después germinar, cuando las condiciones sean favorables, y formar una colonia.

Las esporas de muchos mohos pueden germinar y formar una colonia a temperaturas de 4 °C o menos (la temperatura normal de un frigorífico). Si las condiciones no son óptimas para el crecimiento, pueden permanecer en estado latente en espera de mejores condiciones. Las numerosas especies conocidas tienen características muy diferentes en cuanto a la tolerancia a temperaturas y humedad extremas. Algunos mohos pueden sobrevivir en condiciones tan adversas como en los suelos permanentemente cubiertos de nieve de la Antártida, en cámaras de refrigeración, en solventes de alta acidez e incluso en productos petrolíferos.

### **2.1.1. Zigomicetos.**

Los mohos zigomicetos son aquéllos que producen esporas mediante reproducción sexual. Se conocen aproximadamente 1.060 especies. Mayoritariamente viven en el suelo, o en órganos vegetales en proceso de descomposición o en substratos de origen animal. Algunos son parásitos de plantas, insectos y pequeños animales, mientras que otros viven en relación simbiótica con las plantas.

Las esporas sexuales se forman en una estructura esférica llamada zigoesporangio (de ahí el nombre de esta *fila*). Su reproducción también puede ser asexual, para la que desarrollan unas estructuras llamadas esporangios (Figura 2.2.) localizadas al final de hifas aéreas de crecimiento vertical (esporangióforos) conteniendo millares de esporas asexuales. En productos alimenticios, los mohos zigomicetos más conocidos pertenecen al orden de los mucorales, como por ejemplo *Rhizopus stolonifer*, conocido también como moho negro del pan. Las especies del género *Rhizopus* son causantes de podredumbre en varios alimentos de origen vegetal como tomates, fresas, frutas de pepita y de hueso.

Sin embargo, desde el punto de vista de producción de micotoxinas, el *fila* de los zigomicetos no tiene importancia. Aunque se creyó que una especie (*Rhizopus microsporus*) era productor de la micotoxina denominada rhizonin, estudios actuales

(Partida-Martínez, 2007) demostraron que dicha toxina es en realidad producida por una bacteria con la que crece en simbiosis.



**Figura 2.2.- Fresas atacadas por *Rhizopus* y detalle de los esporangios.**

### **2.1.2. Ascomicetos.**

Constituyen el mayor *fila* del reino *Fungi* con aproximadamente 64.000 especies. La característica principal de estos hongos son las estructuras que contienen las esporas sexuales, llamadas ascas, por lo que dichas esporas son conocidas como ascosporas. Sin embargo, algunas especies no tienen fase sexual conocida y no forman ascas ni, por lo tanto, ascosporas. En la reproducción asexual en estos mohos se desarrollan unas estructuras llamadas conidióforos que contienen las esporas asexuales o conidiosporas (Figura 2.3.). Como se ha comentado anteriormente, algunos autores engloban las especies cuya fase sexual no es conocida dentro de los Deuteromicetos u hongos imperfectos. Actualmente, basado en estudios morfológicos, fisiológicos y genéticos, la tendencia predominante es a clasificar los ascomicetos asexuales (o anamorfos) junto con los hongos que sí tienen fase sexual conocida (o teleomorfos) y, por tanto, producen ascas. El grupo de los Ascomicetos contiene algunas setas comestibles, trufas, levaduras y, en simbiosis con algas microscópicas, forman líquenes.

Por lo que se refiere propiamente a los mohos, dentro de los Ascomicetos encontramos los mohos micotoxigénicos más representativos, pertenecientes a los géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, de los que se hablará con más detalle en este capítulo.

### **2.1.3. Deuteromicetos.**

Es un grupo heterogéneo que engloba especies no relacionadas entre sí pero que tienen en común el hecho de que tan sólo se conoce su ciclo asexual o anamorfo. Probablemente, estos hongos perdieron la fase sexual durante su evolución, aunque también se considera que no se ha podido observar la fase sexual porque no se conocen las condiciones ambientales que provocarían su aparición.

Por ejemplo, *Aspergillus niger* no tiene ciclo sexual conocido (esto es, no se conoce su teleomorfo). Sin embargo *Aspergillus nidulans* sí tiene fase sexual conocida, pudiéndose designar en este caso por el nombre de su teleomorfo (*Emericella nidulans*).

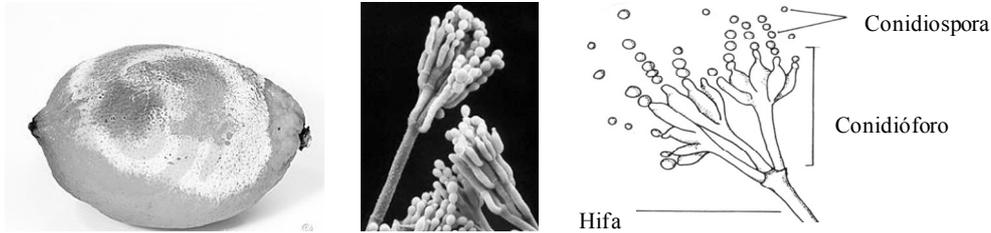
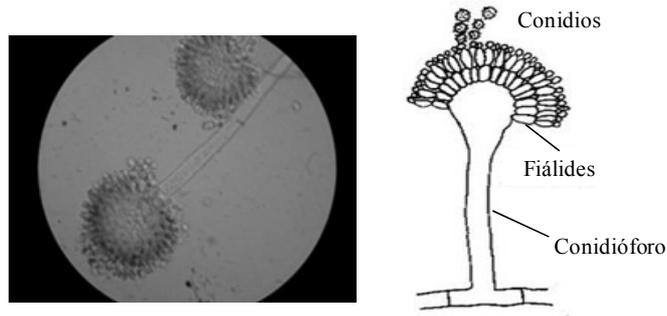


Figura 2.3.- Podredumbre en limón causada por *Penicillium* y detalle de los conidióforos.

## 2.2. Principales mohos productores de micotoxinas.

### 2.2.1. Género *Aspergillus*.

En 1960, tras una lo que parecía una intoxicación acompañada por un cuadro de hemorragias internas y necrosis hepática, más de 100.000 aves murieron en Inglaterra. Las investigaciones posteriores revelaron que la causa fue la ingesta de piensos elaborados con cacahuete fuertemente contaminado por un moho del género *Aspergillus* (*A. flavus*) y la consecuente acumulación en el alimento de aflatoxinas (AFs), micotoxinas producida por este moho (Goldblatt, 1969). Desde entonces se han identificado numerosas micotoxinas producidas por el género *Aspergillus* que pueden acabar contaminando los alimentos, como la ocratoxina A (OTA), toxinas cuya presencia ha sido legislada a nivel internacional, lo que supone que la presencia del género *Aspergillus* en los alimentos tiene un gran impacto económico. Es en parte debido a este peso económico que la clasificación del género *Aspergillus* es una de las mejores de entre los hongos filamentosos (Varga, 2003). En el género *Aspergillus*, los conidios constituyen cadenas que se originan en la célula conidiógena o fiálide (Figura 2.4.). En algunos casos hay células adyacentes a las fiálides denominadas méulas o células de soporte.



**Figura 2.4.- Imagen microscópica de conidios de *Aspergillus* (Paula Rodrigues, Universidade do Minho) y detalle de los conidióforos.**

Raper y Fenell (1965) describieron 18 especies basadas en características morfológicas y de cultivo que, más tarde, se denominaron secciones y se agruparon en 6 subgéneros (Gams et al., 1985). En el año 2000, los estudios filogenéticos basados en el análisis de secuencias de RNA ribosomal, permitieron clasificar 3 subgéneros que englobaban un total de 15 secciones (Tabla 2.1.) y el denominado grupo *Warcupiella* (Peterson, 2000). En la siguiente tabla se describen las secciones que forman el género *Aspergillus*, el subgénero y el nombre del teleomorfo, caso de que se conozca.

**Tabla 2.1.- Clasificación de las especies de *Aspergillus* (Varga et al., 2003).**

<b>Sección</b>	<b>Subgénero</b>	<b>Teleomorfo asociado</b>
Aspergillus	<i>Aspergillus</i>	<i>Eurotium</i>
Restricti	<i>Aspergillus</i>	---
Cervini	<i>Fumigati</i>	---
Terrei	<i>Nidulantes</i>	<i>Fenellia</i>
Flavipedes	<i>Nidulantes</i>	<i>Fenellia</i>
Nigrí	<i>Circumdati</i>	---
Circumdati	<i>Circumdati</i>	<i>Neopetromyces</i>
Flavi	<i>Circumdati</i>	<i>Petromyces</i>
Cremei	<i>Circumdati</i>	<i>Chaetosartorya</i>
Candidi	<i>Circumdati</i>	---
Wentii	<i>Circumdati</i>	---
Fumigati	<i>Fumigati</i>	<i>Neosartorya</i>
Clavati	<i>Clavati</i>	<i>Neocarpenteles</i>
Nidulantes	<i>Nidulantes</i>	<i>Emericella</i>
Versicolores	<i>Nidulantes</i>	---
Usti	<i>Nidulantes</i>	---
Sparsi	<i>Circumdati</i>	---
Ornati	<i>Ornati</i>	<i>Scleroeleista</i>
Grupo Warcupiella	<i>Ornati</i>	<i>Warcupiella</i>

En el presente capítulo, el estudio particular de los principales *Aspergilli* micotoxigénicos se ha realizado por secciones y en cada sección se han descrito las especies más representativas. En la Tabla 2.2. se resume algunas especies de *Aspergillus* de importancia en la industria alimentaria, junto con la toxina que producen y el tipo de alimento susceptible de ser contaminado. A continuación se explica más detalladamente las especies más significativas.

#### 2.2.1.1. Sección Nigri.

Las especies y agregados de *Aspergillus* sección Nigri, tienen un impacto significativo en la sociedad moderna. Muchas de las especies causan deterioro de los alimentos, y algunos se utilizan en la industria de la fermentación para producir enzimas hidrolíticos, como las amilasas o lipasas, y ácidos orgánicos, como el ácido cítrico y el ácido glucónico.

Aunque el hábitat principal de los *Aspergillus* sección Nigri es el suelo, diversas especies de esta sección han sido aisladas de otros substratos. Aparte de su importancia económica, los *Aspergillus* sección Nigri también son importantes como productores de OTA siendo frecuentes contaminantes de diversos productos agrícolas, incluidos los productos derivados de uva, café y cacao (Kozakiewicz, 1989). Mientras los principales productores de OTA en climas templados pertenecen al género *Penicillium*, en climas cálidos y tropicales los *Aspergillus* son la principal fuente de esta micotoxina.

Actualmente, se considera que las especies que forman la sección Nigri son las principales causante de la acumulación de OTA en uvas, uvas pasificadas y vino (Bellí et al., 2004, 2005, 2006; Valero et al., 2008). Los estudios realizados en diversas zonas de España (Bellí et al., 2006), Francia (Sage et al., 2002), Portugal (Serra et al., 2003, 2005) e Italia (Battilani et al., 2003) demuestran una alta incidencia de estos mohos en los viñedos de las zonas con clima mediterráneo o con influencia mediterránea, mientras que en las zonas vinícolas del Norte de Europa, raramente se han aislado. Los mohos ocratoxigénicos más importantes de esta sección son *A. niger* y *A. carbonarius*.

*A. niger* está considerado un agregado de diferentes especies, que incluye *A. niger*, *A. tubingensis*, *A. brasiliensis*, *A. foetidus* y la recientemente descrita *A. ibericus* (Serra et al., 2006). Pocas cepas de *A. niger* producen OTA, mientras que *A. carbonarius* se ha descrito recientemente como uno de los principales productores de esta micotoxina (Abarca et al., 1994).

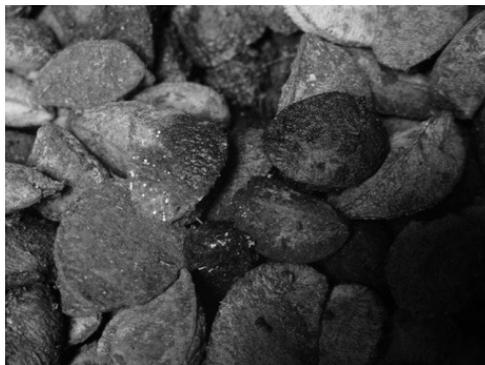
Battilani y Pietri (2002) consideran también *A. carbonarius* como el principal causante de la acumulación de OTA en uvas y vino. *A. carbonarius* es también fuente de contaminación por OTA en uvas en Argentina y Brasil (Da Rocha et al., 2002). Este moho forma también un agregado con *A. japonicus* y *A. aculeatus*. Algunos autores consideran *A. aculeatus* una variante de *A. japonicus* (Perrone et al., 2004), mientras que otros consideran que se trata de dos especies diferentes (Kozakiewicz, 1989; Samson, 1992).

La especie más importante es, sin embargo, *A. carbonarius*, pues ni *A. japonicus* ni *A. aculeatus* producen OTA. Por otro lado, recientes estudios llevados a cabo en Argentina (Magnoli et al., 2007) alertan sobre la incidencia de *Aspergilli* negros en maíz en países de Sudamérica y su potencial peligro como contaminantes de OTA en este cereal.

#### 2.2.1.2. Sección Flavi.

Los principales mohos que componen esta sección son *A. flavus* y *A. parasiticus*, ambos productores de AFs, siendo considerada la aflatoxina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) la más tóxica de las micotoxinas conocidas. Ambos hongos son ubicuos y se encuentran de forma natural en el suelo, la principal fuente de infección de las plantas a las que afecta (Figura 2.5.). Son, por tanto, hongos de campo, aunque la colonización y consecuente contaminación por AFs puede ocurrir durante el almacenamiento. En maíz se ha demostrado que, incluso bajo condiciones óptimas de almacenamiento, puede haber contaminación por AFs (Saleemullah et al., 2006).

Dentro de los mohos que afectan los alimentos, *A. flavus* se considera el principal responsable de la contaminación por AFs. Es el hongo más citado a nivel mundial, lo que refleja su importancia económica, así como su ubicuidad. Es especialmente abundante en los climas tropicales. Los principales alimentos afectados por *A. flavus* son los frutos secos (especialmente el cacahuete) y los cereales, principalmente el maíz aunque también puede afectar al trigo, cebada y otros cereales así como al café y las semillas oleaginosas. *A. parasiticus* también se presenta en climas tropicales, aunque su distribución es más limitada. También es más limitado el número de materias primas que puede afectar, habiéndose aislado principalmente de cacahuetes, del que se cree que es endémico (Pitt y Hocking, 2007).



**Figura 2.5.- Castañas del Brasil afectadas por *Aspergillus* (Otniel Freitas, Universidade do Minho).**

Por tratarse de hongos que proceden del campo, la lucha contra ellos debe realizarse en el cultivo. Tradicionalmente el uso de fungicidas o insecticidas (para evitar heridas que faciliten la penetración de la espora y la consecuente infección de la planta), han sido los métodos más utilizados. Actualmente se desarrollan métodos de control biológico que consisten en la sustitución de las cepas salvajes de *A. flavus* o *A. parasiticus* que se encuentran en el suelo por cepas no micotoxigénicas que compiten directamente con las primeras, diezmando la población (Pitt y Hocking, 2007). Otros estudios han demostrado que, en el cultivo del cacahuete, el tratamiento de los suelos solamente con una cepa no toxigénica de *A. flavus* fue más eficaz que el tratamiento con *A. parasiticus* no toxigénico, o con una mezcla de ambos (Dorner y Horn, 2007).

**Tabla 2.2.- Especies de *Aspergillus*, principales alimentos afectados y micotoxinas producidas.**

<b>Especie</b>	<b>Alimento (Pitt y Hocking 2007)</b>	<b>Micotoxina</b>
<i>A. carbonarius</i>	Uvas, pasas.	OTA.
<i>A. clavatus</i>	Cereales de grano pequeño, maíz, pan, frutos secos.	Patulina.
<i>A. flavus</i>	Cacahuets, frutos secos, maíz y otros cereales, café, oleaginosas.	AFs, esterigmatocistina.
<i>A. fumigatus</i>	Cacao, café, cacahuete, especias, cereales, soja, vegetales en general.	Gliotoxina, verruculogeno.
<i>A. nidulans</i>	Cereales de grano pequeño, maíz, frutos secos.	Esterigmatocistina.
<i>A. niger</i>	Uvas, pasas y frutas pasificadas, pescados secos, ahumados o curados, cacao.	Malformina.
<i>A. ochraceus</i>	Café, frutos secos.	OTA, dextruxina, ácido penicílico.
<i>A. parasiticus</i>	Cacahuets.	AFs.
<i>A. terreus</i>	Frutos secos.	Citrinina, citreoviridina.
<i>A. ustus</i>	Soja, anacardos, almendras.	Austdiol, brevianamida.
<i>A. versicolor</i>	Cereales, semillas oleaginosas, aceites vegetales.	Ácido ciclopiazónico.

### 2.2.1.3. Sección Circumdati.

El principal mohos de esta sección es *A. ochraceus*, que afecta principalmente al grano de café, donde puede ser causa de contaminación por OTA. Sin embargo, no está considerado como uno de los principales causantes de la contaminación por esta micotoxina, ya que pocas cepas de esta especie son micotoxigénicas. En análisis de

granos de café de diversos orígenes, Pardo et al. (2004) determinaron que, aunque el 72% de las muestras presentaban algún tipo de infección fúngica, tan sólo el 2,8% de las especies aisladas eran *A. ochraceus*, de las cuales, tan sólo el 16% eran productoras de OTA. Por otro lado, otros estudios (Taniwaki et al, 2005) han revelado que el 75% de las cepas aisladas de granos de café procedentes de Brasil eran productoras de OTA.

### 2.2.2. Género *Penicillium*.

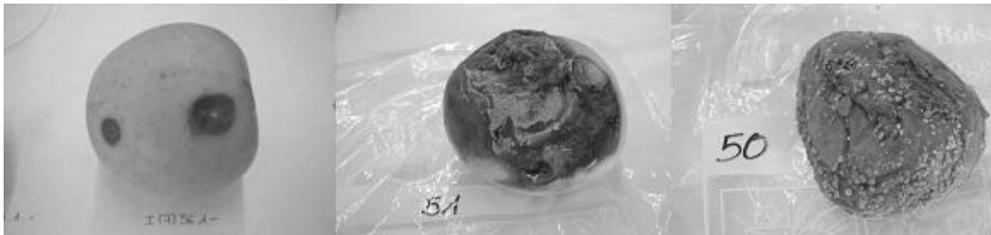
Las especies de género *Penicillium* son mohos comunes que se desarrollan sobre los más diversos sustratos: cereales, paja, cueros, frutas, etc. La importancia de estos mohos en la alimentación humana y animal se debe a que, además de causar deterioro, producen micotoxinas. Entre las más importantes se encuentran la patulina (PAT), citrinina (CIT) y roquefortina (Carrillo, 2003a).

Este género se caracteriza por formar conidios en una estructura ramificada semejante a un pincel que termina en fiálides (se puede observar un detalle de estas estructuras en la Figura 2.3) cuyas ramificaciones se ubican formando verticilos. Si hay un sólo verticilo de fiálides el pincel se denomina monoverticilado. Los conidios son esféricos o elipsoidales, unicelulares, y en masa se ven, por lo general, de color verde. El género *Penicillium* está subdividido en grupos o subgéneros de acuerdo a la morfología de los pinceles. La serie *Monoverticillata* o subgénero *Aspergilloides*, comprenden a todos los *Penicillium* spp. monoverticilados. La serie *Terverticillata* o subgénero *Penicillium*, comprende a las especies que tienen tres, a veces cuatro, niveles de ramificaciones. Las especies con pinceles biverticilados, se agrupan en el subgénero *Biverticillium* (Pitt y Hocking 2007). Las cepas de *Penicillium* con reproducción sexual corresponden a los géneros teleomórficos *Eupenicillium* y *Talaromyces*. En la Tabla 2.3. se mencionan algunas de las especies de *Penicillium* de importancia en la industria alimentaria. A continuación se explica más detalladamente las especies más significativas.

#### 2.2.2.1. *Penicillium expansum*.

*P. expansum* es un moho frecuente en postcosecha o almacenamiento, causante de la podredumbre azul, y frecuente productor de PAT. La actividad de agua ( $a_w$ ) mínima para observar crecimiento en medio de cultivo es de 0,890, situándose la  $a_w$  óptima entre 0,960 y 0,980 (Lahali et al., 2005). La contaminación de productos por *P. expansum* se da principalmente en las etapas de almacenamiento, siendo el principal causante de la podredumbre en manzana (Figura 2.6.) y pera en las cámaras de almacenamiento y en las industrias de producción de derivados de estas frutas (zumos, purés, alimentación infantil, etc.) (Morales et al., 2010). Sin embargo, también es responsable de podredumbre en postcosecha en ciruelas, albaricoques, melocotones, cerezas, uvas, melones, grosellas y fresas (Snowdon, 1990) y puede producir micotoxinas en algunos de estos sustratos (Larsen et al., 1998).

Por ser las manzanas un producto de temporada, es necesario su almacenamiento para asegurar el suministro, bien al mercado directo, bien a las industrias de elaboración de subproductos. Este almacenamiento se realiza a bajas temperaturas (entre  $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Sin embargo, *P. expansum* es capaz de crecer a muy bajas temperaturas y producir PAT incluso bajo condiciones de atmósfera modificada (Morales et al., 2007). Además, está demostrado que prácticamente el 100% de los aislados de *P. expansum* son capaces de producir podredumbre en manzanas y, también, que entre el 95% y el 100% de los aislados pueden producir PAT cuando colonizan las manzanas (Morales et al., 2008a). Esto se traduce en una gran incidencia de la podredumbre producida por este moho. Amiri y Bompeix (2005) evaluaron la presencia de *Penicillium* spp. en cámaras de almacenamiento de Francia y demostraron que el 62% de los aislados eran *P. expansum*. En Canadá y EE.UU., la podredumbre del moho azul es la enfermedad más importante de las manzanas almacenadas (Andersen et al., 2004). Por otro lado, se ha demostrado que, en la región más importante de producción de manzana en España (la provincia de Lleida), al menos el 50% de las manzanas almacenadas en cámaras que presentaban evidente deterioro por moho azul estaban contaminadas con PAT (Viñas et al., 1993). En Italia, Piamontese et al. (2005) reportaron porcentajes similares. En Portugal, Martins et al. (2002) observaron que el 70% de las manzanas almacenadas en frío que presentaban una lesión estaban contaminadas con PAT.



**Figura 2.6.- Diferentes grados de podredumbre azul en manzana causada por *P. expansum* (Héctor Morales, Universidad de Lleida).**

Por otro lado, en las etapas previas de la producción de subproductos de manzanas, las manzanas pueden llegar a estar varios días en espera almacenadas al aire libre, lo que causa un rápido desarrollo de la podredumbre y, por tanto, la esporulación de aquellas cepas que han resistido el tratamiento fungicida y las bajas temperaturas de la cámara de almacenamiento (Morales et al., 2007). Estas esporas contaminarán los equipos y por tanto las manzanas que van a ser almacenadas, produciéndose un fenómeno de retroalimentación que agrava el problema de la podredumbre azul y acumulación de PAT en la industria. Por otro lado, se ha demostrado que el tamaño del inóculo (o número de esporas) de *P. expansum* que germina en una herida de la manzana afecta al grado de podredumbre de ésta y a la acumulación de PAT; empeorando la situación cuanto mayor es. Por tanto, la higiene

en las cámaras de conservación, para disminuir al máximo el número de esporas, se traduce en menores pérdidas por podredumbre y en menor acumulación de PAT (Morales et al., 2008a).

El principal método de prevención de la podredumbre azul es el uso de fungicidas postcosecha que se aplican antes de la entrada de las frutas en las cámaras de almacenamiento. Se utilizan fungicidas sistémicos (principalmente tiabendazol e imazalil) que, por tanto, son susceptibles de causar la aparición de poblaciones resistentes. El uso de microorganismos antagonistas de *P. expansum* o agentes de biocontrol (BCA, por sus siglas en inglés) se está perfilando como un método eficaz en la lucha contra *P. expansum*, ya que es un método no contaminante y que evita la aparición de cepas resistentes (Usall et al., 2000, 2001; Morales et al., 2008b).

#### 2.2.2.2. *Penicillium citrinum*.

Es una especie con un intervalo de temperaturas de crecimiento muy amplio (de 5 a 37 °C) (Pitt y Hocking, 2007), siendo su temperatura óptima de crecimiento 30 °C (Montani et al., 1988). Puede desarrollarse a bajas  $a_w$  (0,80), siendo el principal productor de la micotoxina citrinina (CIT) en arroz.

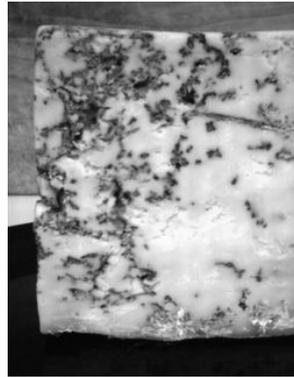
*P. citrinum* se asoció por primera vez al arroz cuando fue aislado de muestras con la enfermedad conocida como arroz amarillento (*yellow rice* en inglés) después de la Segunda Guerra Mundial (Udagawa y Tatsuno, 2004). Más adelante, se aisló de otros cereales, entre ellos trigo, cebada y maíz (Aziz, 2006). En Sudamérica, se ha aislado también de muestras de cereales que causaron nefropatía porcina en Brasil (Rosa et al., 1985), mientras que en Argentina, se ha aislado *P. citrinum* de muestras de maíz, trigo, soja y arroz. La mayoría de las cepas eran productoras de CIT en laboratorio, pero no hay documentación que demuestre que exista contaminación por CIT en condiciones naturales (Comerio et al., 1998).

#### 2.2.2.3. *Penicillium roqueforti*.

Es un moho xerofílico, es decir, puede germinar y desarrollarse en condiciones muy bajas de actividad de agua (la  $a_w$  mínima en medio de cultivo es de 0,82 a 32 °C) (Gock et al., 2003). Se considera que lo que se denomina como *P. roqueforti* comprende diversas subespecies. Basándose en diferencias a nivel molecular y en los perfiles de metabolitos secundarios, se propuso dividir el complejo en tres especies diferentes: *P. roqueforti*, *P. carneum* y *P. paneum* (Boysen et al., 1996). Sin embargo, como morfológicamente son muy similares, para fines prácticos se considera una sola especie o bien tres subespecies pertenecientes a un complejo. Las tres subespecies se diferencian en el tipo de toxina que producen: *P. roqueforti* y *P. carneum* producen roquefortina C, *P. carneum* y *P. paneum* producen, además, PAT, mientras que sólo *P. roqueforti* produce toxina PR (Pitt y Hocking, 2007).

El complejo *P. roqueforti* es un moho bien conocido por su uso en la elaboración de quesos tipo “azul”, como el Roquefort, Gorgonzola, Stilton o Cabrales (Figura 2.7.). En la elaboración de este tipo de quesos se utilizan cepas no productoras

de micotoxinas. Además, el queso está considerado un sustrato pobre para la producción de micotoxinas (Bullerman, 1981; Frisvad, 1988). Sin embargo, durante la elaboración de estos productos puede haber contaminación (bien a través del aire, bien por los equipos utilizados) por cepas micotoxigénicas. López-Díaz et al. (1995) demostraron la presencia de cepas del grupo *P. roqueforti* potencialmente productoras de roquefortina C en quesos azules, y detectaron la presencia roquefortina C en alguna de las muestras. En estudios más recientes (Fernández-Boga, 2009) se ha demostrado la capacidad de producir roquefortina C en cinco cepas de *P. roqueforti* utilizadas en la elaboración de quesos tipo “azul” en la zona de Picos de Europa, en el Norte de España.



**Figura 2.7.- *P. roqueforti* en queso azul.**

El complejo *P. roqueforti* es particularmente importante en la podredumbre de cereales almacenados al vacío (Lacey, 1989), pues es capaz de desarrollarse con niveles muy bajos de oxígeno y puede contaminar el producto con las toxinas anteriormente citadas si el sistema hermético de almacenamiento falla (Lacey, 1989; Häggblom, 1990; Lacey and Magan, 1991). Petersson y Schnürer (1999) demostraron que las tres especies del complejo también son capaces de crecer y causar podredumbre en cereales de alto contenido hídrico envasados al vacío, y que son susceptibles de producir toxinas en este sustrato. También se ha asociado *P. roqueforti* a la podredumbre del pan de centeno empaquetado (Lund et al., 1996). Este tipo de hongos suelen estar establecidos en las panificadoras y contaminan el producto durante la etapa de enfriamiento (Boey et al., 2001).

#### 2.2.2.4. *Penicillium verrucosum*.

*P. verrucosum* es un contaminante de alimentos elaborados a base de cereales para consumo humano y animal. Es el principal productor de OTA en productos básicos de las zonas de clima templado-frío y continental. *P. verrucosum* es también productor de CIT. Puede desarrollarse en un intervalo de temperaturas bastante amplio (0-30 °C), siendo su temperatura óptima 20 °C. La  $a_w$  mínima para la

germinación de sus esporas y su crecimiento es muy baja (0,80  $a_w$ ). El intervalo de pH que permite el crecimiento del hongo también es muy amplio (de pH 2,1 a 10) (Pitt y Hocking, 2007).

**Tabla 2.3.- Especies de *Penicillium*, principales alimentos afectados (Universidad de León, 2007; Pitt y Hocking, 2007) y principales micotoxinas que producen (Frisvad et al., 2004).**

<b>Especie</b>	<b>Alimento</b>	<b>Micotoxina</b>
<i>P. allii</i>	Bulbos, vegetales en general.	Roquefortina.
<i>P. aurantiogriseum</i>	Cereales.	Roquefortina, verrucosidina.
<i>P. brevicompactum</i>	Frutos secos, cereales.	Roquefortina, ácido micofenólico.
<i>P. camemberti</i>	Productos cárnicos.	Ácido ciclopiazónico.
<i>P. carneum</i>	Embutidos, queso, productos cárnicos.	PAT, roquefortina, penitrem, ácido penicílico.
<i>P. commune</i>	Cereales, productos cárnicos.	Ácido ciclopiazónico.
<i>P. crustosum</i>	Vegetales en general.	Penitrem, roquefortina.
<i>P. digitatum</i>	Frutas, especialmente cítricos.	--
<i>P. expansum</i>	Manzana, pera, frutas en general.	PAT.
<i>P. griseofulvum</i>	Cereales.	Ácido ciclopiazónico, griseofulvina, PAT, roquefortina.
<i>P. italicum</i>	Frutas, especialmente cítricos.	--
<i>P. paneum</i>	Embutidos, queso, productos cárnicos.	PAT, roquefortina.
<i>P. roqueforti</i>	Embutidos, queso, productos cárnicos, pastelería.	Roquefortina, toxina PR.
<i>P. viridicatum</i>	Embutidos, queso, productos cárnicos, pastelería.	Ácido penicílico, viridamina.
<i>P. verrucosum</i>	Cereales, pastelería.	CIT, OTA, verrucina.

Por ser *P. verrucosum* endémico en trigo, avena, cebada y arroz en el Norte de Europa y Canadá, puede encontrarse en alimentos para consumo humano elaborados a base de cereales, como por ejemplo el pan y los productos de bollería. El moho se encuentra de forma natural en la planta en las zonas anteriormente citadas, pero se ha demostrado que la contaminación del grano ocurre durante la cosecha y en el proceso de secado de éste, por lo que la contaminación por *P. verrucosum* es un problema eminentemente de postcosecha. (Lund y Frisvald 2003).

Como se ha comentado anteriormente, en climas más cálidos, la principal fuente de contaminación de OTA son algunas especies del género *Aspergillus*. En

España, por ejemplo, muy pocos estudios han conseguido aislar *P. verrucosum* de productos alimenticios. Sin embargo, un estudio de Bragulat et al. (2008), demostró la presencia de cepas de este moho productoras de OTA y CIT en cereales y en productos destinados a la alimentación animal elaborados a base de cereales obtenidos de cooperativas locales. Aunque la presencia de estas cepas fue menor, los autores señalan que existe un riesgo potencial de contaminación por estas micotoxinas.

Aunque, como se ha señalado, los cereales y productos derivados son el principal sustrato de *P. verrucosum*, existen estudios que demuestran la presencia de este moho en otros productos. Lund et al (1995) demostraron la presencia de cepas de *P. verrucosum* productoras de OTA (aunque no de CIT) en quesos producidos en Dinamarca, Grecia, Francia y Reino Unido. Iacumin et al. (2009) demostraron la presencia de *P. verrucosum* en la superficie de embutidos contaminados por OTA, aunque no se demostró la relación causa-efecto, dado que también se aislaron especies ocratoxigénicas de *Aspergillus*.

### **2.2.3. Género Fusarium.**

El género *Fusarium* fue descrito hace casi 200 años y abarca una gran variedad de especies de importancia por ser patógenas de plantas y porque muchas de ellas producen micotoxinas (Tabla 2.4.). Las micotoxinas producidas por algunas especies se asocian a cuadros de toxicidad celular, efectos sobre el crecimiento y el desarrollo de los animales, e incluso al cáncer en humanos y animales domésticos, por lo que son de gran interés en el sector agrícola y alimentario. Las principales micotoxinas producidas por especies de *Fusarium* son las fumonisinas (FBs), zearalenona (ZEA) y los tricotecenos, incluyendo en este grupo el diacetoxiscirpenol, la toxina T-2, el deoxinivalenol (DON) y el nivalenol (NIV) (Glenn, 2007).

Las especies de *Fusarium* producen esporas asexuales multicelulares, los denominados macroconidios, muy característicos del género (Figura 2.8.). Son curvados, pluriseptados, con una célula apical más o menos puntiaguda y en muchas especies con una célula basal en forma de pie. También producen microconidios, que son comúnmente unicelulares, con formas desde elipsoidales hasta fusiformes. Además, algunas especies producen clamidosporas (tipo de espora de paredes gruesas) resistentes, muy importantes para la supervivencia a largo plazo. Microconidios y macroconidios son importantes para asegurar la dispersión del moho mientras que las clamidosporas lo son para la supervivencia en condiciones adversas (Carrillo, 2003b).

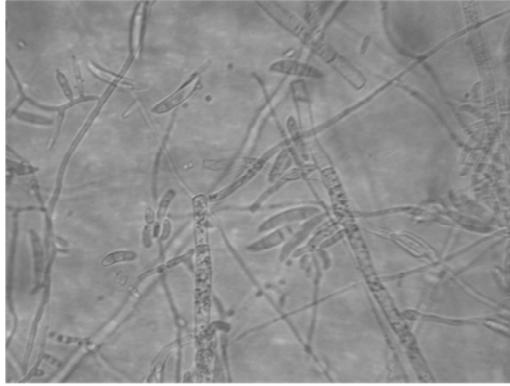


Figura 2.8.- Imagen microscópica de macroconidios y microconidios de *Fusarium* sp.

#### 2.2.3.1. *Fusarium graminearum* y *F. pseudograminearum*.

*F. graminearum* (teleomorfo, *Gibberella zeae*) se consideró durante mucho tiempo una especie muy variable respecto a su perfil micotoxigénico, morfología y características *in vitro*. Esta variabilidad se achacó a diferencias entre cepas de la misma especie. Posteriormente, por características morfológicas y de cultivo, se reconocieron dos poblaciones (Grupo 1 y Grupo 2), basadas en la presencia de ciertas estructuras reproductivas (peritecios) (Francis y Burgess, 1977). Además, se observó que las patologías causadas a cereales de grano pequeño asociadas a ambos grupos diferían. Se demostró que las cepas del Grupo 1 eran patógenos de trigo, cebada, avena y medicago, que causaban podredumbre de la espiga (*crown rot* en inglés; Figura 2.9.) y podredumbre radical (*foot rot*, en inglés) en Australia, Sudáfrica y en el Noroeste de los EE.UU. Por otro lado, las cepas del Grupo 2 causaban podredumbre de la mazorca (*ear rot*, en inglés) en maíz y la enfermedad conocida como golpe blanco o fusariosis de la espiga (*head blight*, en inglés) en el trigo y otros cereales de grano pequeño, en regiones templadas del Hemisferio Norte (Glenn, 2007).

Actualmente, gracias a análisis moleculares se consideran ambos grupos dos especies distintas, siendo las poblaciones del Grupo 1 conocidas como *F. pseudograminearum* (teleomorfo *Gibberella coronicola*) (Aoki y O'Donnell, 1999), mientras que las cepas del Grupo 2 forman un complejo que comprende *F. graminearum* y otros linajes filogenéticos. Las dos especies son capaces de producir DON y ZEA (O'Donnell et al., 2000), mientras que sólo *F. graminearum* produce NIV (Blaney y Dodman, 2002).



**Figura 2.9.- Trigo con podredumbre de espiga (derecha) causada por *Fusarium*.**

La temperatura óptima de crecimiento de *F. graminearum* es de entre 24 a 26 °C en medio de cultivo y 25 °C en granos de trigo irradiado. A temperaturas de entre 15 a 20 °C, la  $a_w$  mínima para observar crecimiento es de 0,90. (Ramírez et al., 2006a). La contaminación del maíz por *F. graminearum* ocurre en precosecha, desde el momento de la antesis. Debido a su relativamente alta  $a_w$  óptima de crecimiento, cuando las condiciones de humedad y temperatura son favorables, el hongo puede causar una pérdida considerable de la cosecha, debido a la pérdida de peso del grano, o depreciación debido al aspecto externo, además de la posibilidad de contaminación por micotoxinas. En Argentina, por ejemplo, durante los últimos 50 años se han dado 16 brotes de la enfermedad con consecuencias variables (Ramírez et al., 2006b). La combinación de las características epidemiológicas, la poca resistencia de la planta huésped y la fuerte influencia de las condiciones meteorológicas hacen necesaria la adopción de diferentes medidas para reducir los daños que un brote puede causar. El uso de fungicidas es un método de control necesario cuando las condiciones de humedad y temperatura favorecen la infección y propagación del hongo.

#### 2.2.3.2. *Fusarium verticillioides*, *F. subglutinans* y *F. proliferatum*.

En EE.UU., existen referencias sobre toxicidad en animales asociada a la ingesta de maíz enmohecido (Figura 2.10.) desde hace más de 100 años. Desde entonces, hay documentación que describe cuadros tóxicos en animales domésticos (especialmente équidos) con síntomas como temblores, parálisis, convulsiones y muerte (Glenn, 2007). Butler (1902) fue capaz de inducir los síntomas de estos cuadros en caballos alimentándolos con maíz enmohecido, aunque el responsable de dicha intoxicación no se descubrió hasta que *F. verticillioides* (por aquel entonces

conocido como *F. moniliforme*) fue descrito como el moho de color rosáceo que crecía en el maíz (Sheldon 1904).

Como en el caso de *F. graminearum* y *F. pseudograminearum*, basándose en el concepto filogenético de especie y en la secuenciación y análisis de DNA, se demostró que el moho que se denominaba anteriormente *F. moniliforme* (actualmente *F. verticillioides*), englobaba dos especies más, también asociadas al maíz y que se identificaron como *F. subglutinans* y *F. proliferatum*. (Nirenberg y O'Donnell, 1998). Las tres especies son productoras de FBs y otras micotoxinas, aunque existen ciertas diferencias entre ellas en el perfil micotoxigénico. *F. verticillioides* (= *F. moniliforme*) produce FBs y fusarina (FUS); *F. subglutinans* produce moniliformina (MON), beauvericina (BEA) y fusoproliferina (FP); y *F. proliferatum* produce MON, BEA, FBs.



**Figura 2.10.- Podredumbre del maíz causada por *Fusarium*.**

Está considerado que *F. verticillioides* y *F. proliferatum* son los principales mohos asociados al maíz en ciertas zonas del mundo (Miller, 1994). Ambos tienen  $a_w$  óptimas de crecimiento parecidas (0,994 a 0,93 en medio de cultivo a base de maíz). En este medio se observa crecimiento a 4 °C y no existe crecimiento a temperaturas mayores de 40 °C (Marín et al., 1995).

Ambos hongos se han aislado de hojas, mazorcas, tallos y raíces, incluso de aquéllas que no presentaban síntoma alguno de enfermedad, lo que sugiere que existe una relación de mutualismo con la planta y que algunos de los metabolitos que producen, como el ácido fusárico, son beneficiosos para ésta (Wicklów et al., 1994). *F. verticillioides* y *F. proliferatum* son, como en el caso de *F. graminearum*, causantes de la podredumbre de la mazorca pero, a diferencia de éste último, que es endémico de zonas templadas, son endémicos de zonas tropicales o, en general, de climas cálidos y secos. (De Leon y Pandey, 1989) y están asociados a años secos y a los daños causados por insectos. También diversos ensayos de campo, han

demostrado que la incidencia del barrenado del maíz aumenta la podredumbre del maíz causada por *F. verticillioides* y la concentración de FBs (Lew et al., 1991). La incidencia de la enfermedad también se ve incrementada con la población de *trips*. A diferencia del caso de *F. graminearum* y *F. pseudograminearum*, en los que la lucha se basa en la aplicación de fungicidas, en el caso de *F. verticillioides* y *F. proliferatum*, el uso de insecticidas consigue reducir la enfermedad en campo.

**Tabla 2.4.- Especies de *Fusarium*, especies agrícolas afectadas, zona geográfica endémica y micotoxinas conocidas que producen (adaptado de Glenn, 2007).**

Especie	Especie agrícola afectada	Zona geográfica endémica	Micotoxina*
<i>F. avenaceum</i>	Maíz, cereales de grano pequeño	Mundial	MON, BEA, FUS
<i>F. crookwellense</i>	Cereales de grano pequeño	Mundial	NIV, ZEA, FUS
<i>F. culmorum</i>	Maíz, cereales de grano pequeño	Mundial	DON, ZEA, NIV, FUS
<i>F. fujikuroi</i>	Arroz	Mundial	GB, MON, BEA, FBs
<i>F. globosum</i>	Maíz	África	FBs, BEA, FPc
<i>F. graminearum</i>	Maíz, cereales de grano pequeño	Mundial	DON, ZEA, NIV, FUS
<i>F. kyushuense</i>	Trigo	Japón	NIV, T2, DAS
<i>F. langsethiae</i>	Cereales de grano pequeño	Europa	DAS, T2, HT2, BEAc
<i>F. napiforme</i>	Mijo	África, Argentina	FBs, MON
<i>F. nygamai</i>	Sorgo	África, Argentina, Mundial	FBs, MON, BEA
<i>F. poae</i>	Cereales de grano pequeño	Mundial	DAS, NIV, BEA, FUS, T2, HT2
<i>F. proliferatum</i>	Maíz	África	FBs, MON, BEA, FP
<i>F. pseudoanthophilum</i>	Maíz	África, Australia, Norte América	BEA
<i>F. pseudograminearum</i>	Cereales de grano pequeño	África	DON, ZEA
<i>F. pseudonygamai</i>	Mijo	Mundial	MON, FP
<i>F. sporotrichioides</i>	Cereales de grano pequeño	Mundial	T2, HT2, DAS, BEA, FUS
<i>F. subglutinans</i>	Maíz	Mundial	MON, BEA, FP
<i>F. thapsinum</i>	Sorgo	Mundial	MON
<i>F. verticillioides</i>	Maíz	Mundial	FBs, FUS, MON

\*BEA, beauvericina; DAS, diacetoxiscirpenol; DON, deoxinivalenol y sus derivados; FBs, fumonisinas; FP, fusoproliferina P; FUS, fusarina C; GB, giberelinas; HT2, toxina HT-2; MON, moniliformina; NIV, nivalenol; T2, toxina T-2; ZEA, zearalenona.

### 2.2.3. Género *Alternaria*.

Este género afecta principalmente a productos hortícolas y frutas frescas. Se caracteriza por producir esporas de tamaño considerable (Figura 2.11.), septadas y alargadas.

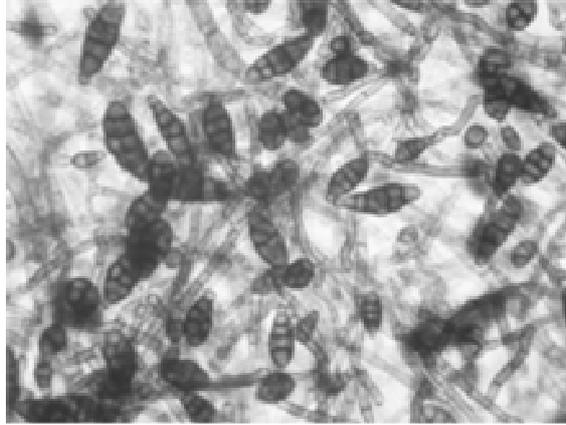


Figura 2.11.- Esporas de *Alternaria*.

#### 2.2.3.1. *Alternaria alternata*.

Es la principal especie del género *Alternaria* de interés en el sector alimentario. La  $a_w$  óptima de crecimiento es de 0,985 y aunque su temperatura óptima de crecimiento es de 25 °C se ha demostrado que puede crecer a temperaturas tan bajas como de -2 °C. Esta  $a_w$  y temperatura mínima de crecimiento hace que *A. alternata* sea de gran importancia en la conservación a bajas temperaturas de frutas y hortalizas. Se cree que es responsable de hasta el 20% de las podredumbres que afectan a productos hortícolas, desde tomates, calabacines y berenjenas hasta naranjas, manzanas, etc. Sin embargo, existen autores (Simmons, 1986) que defienden que *A. alternata* no es la responsable de todas estas podredumbres y que, por ejemplo, la *Alternaria* que se observa en la podredumbre de cítricos podría estar causada por una especie diferente, que se llamaría *A. citrus*.

*A. alternata* produce varias toxinas, la más importante de ellas el ácido tenuazónico. Otros compuestos tóxicos que produce son el alternariol y la altertoxina (Logrieco et al., 2003). Se ha demostrado que algunas de estas sustancias tóxicas pueden acumularse en materias primas o productos frescos como tomates, naranjas, melones, etc. (Pitt y Hocking, 2007).

## Referencias

- Abarca, M.L., Bragulat, M.R., Castellà, G. and Cabanes, F.J. (1994). Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2650-2652.
- Amiri, A. and Bompeix, G. (2005). Diversity and population dynamics of *Penicillium* spp. on apples in pre- and post-harvest environments: Consequences of decay development. *Plant Pathol.* 54: 74-81.
- Andersen, L., Smedsgaard, J. and Frisvad, J.C. (2004). *Penicillium expansum*: consistent production of patulin, chaetoglobosins and other secondary metabolites in culture and their natural occurrence in fruit products. *J. Agric. Food Chem.* 52: 2421-2428.
- Aoki, T. and O'Donnell, K. (1999). Morphological and molecular characterization of *Fusarium pseudograminearum* sp nov., formerly recognized as the Group 1 population of *F. graminearum*. *Mycologia* 91:597-609.
- Aziz, N.H., Mattar, Z.A. and Mahrous, S.R. (2006). Contamination of grains by mycotoxin-producing molds and mycotoxins and control by gamma irradiation. *J. Food Saf.* 26: 184-201.
- Battilani, P. and Pietri, A. (2002) Ochratoxin A in grapes and wine. *Europ. J. Plant Pathol.* 108: 639-643.
- Battilani P., Pietri A., Bertuzzi T., Languasco L., Giorni P. and Kozakiewicz Z. (2003). Occurrence of ochratoxin A-producing fungi in grapes grown in Italy. *J. Food Prot.* 66:633 -636.
- Bau, M., Bragulat, M.R., Abarca, M.L., Mínguez, S. and Cabañes, F.J. (2005). Ochratoxigenic species from Spanish wine grapes. *Int. J. Food Microbiol.* 98: 125- 130.
- Bellí, N., Marín, S., Duaigües, A., Ramos, A.J. and Sanchis, V. (2004). Ochratoxin A in wines, musts and grape juices from Spain. *J. Sci. Food Agric.* 84: 591-594.
- Bellí, N., Bau, M., Marín, S., Abarca, M.L., Ramos, A.J. and Bragulat, M.R. (2006). Mycobiota and ochratoxin A producing fungi from Spanish wine grapes. *Int. J. Food Microbiol* 111: S40-S45.
- Blaney, B.J. and Dodman, R.L., 2002. Production of zearalenone, deoxynivalenol, nivalenol, and acetylated derivatives by Australian isolates of *Fusarium graminearum* and *F. pseudograminearum* in relation to source and culturing conditions. *Aust. J. Agric. Res.* 53: 1317-1326.
- Boey, S.R., Hastings, D., Oxley, J., Pafumi-Rizzo, J. and Young, M. (2001). Bakery and cereal products. En: Moir, C.J., Andrew-Kabilafkas, C., Arnold, G., Cox, B.M., Hocking, A.D., Jensen, I. (Eds.), *Spoilage of Processed Foods: Causes and Diagnosis*. Australian Institute of Food Science and Technology, Food Microbiology Group, AIFST, Sydney, pp. 133-146.
- Boysen, M., Skouboe, P., Frisvad, J. and Rossen, L. (1996). Reclassification of the *Penicillium roqueforti* group into three species on the basis of molecular genetic and biochemical profiles. *Microbiol.* 142: 541-549.

- Bragulat, M.R., Martínez, E., Castellá and G., Cabañes, F.J. (2008). Ochratoxin A and citrinin producing species of the genus *Penicillium* from feedstuffs. *Int. J. Food Microbiol.* 126: 43-48.
- Bullerman, L.B. (1981) Public health significance of molds and mycotoxins in fermented dairy products. *J. Dairy Sci.* 64: 2439-2452.
- Butler, T. (1902). Notes on a feeding experiment to produce leucoencephalitis in a horse with positive results. *Am.Vet. Rev.* 26: 748-751.
- Carrillo, L. (2003a). Los hongos de los alimentos y forrajes [en línea]: *Penicillium*. [Consultado: 15 Noviembre 2010]. Disponible en Internet: <http://www.unsa.edu.ar/matbib/hongos/05htextopenicilios.pdf>
- Carrillo, L. (2003b). Los hongos de los alimentos y forrajes [en línea]: *Fusarium*. [Consultado: 7 Noviembre 2010]. Disponible en Internet: <http://www.unsa.edu.ar/matbib/hongos/06htextofusarios.pdf>
- Comerio, R., Fernández-Pinto, V.E. and Vaamonde, G. (1998). Influence of water activity on *Penicillium citrinum* growth and kinetics of citrinin accumulation in wheat. *Int. J. Food Microbiol.* 42: 219-223.
- Da Rocha, C.A., Palacios, V., Combina, M., Fraga, M.E., De Oliveira, A., Magnoli, C.E. and Dalcero, A.M. (2002). Potential ochratoxin A producers from wine grapes in Argentina and Brazil. *Food Addit. Contam.* 19: 408-414.
- De Leon, C. and Pandey, S. (1989). Improvement of resistance to ear and stalk rots and agronomic traits in tropical maize gene pools. *Crop Sci.* 29: 12-17.
- Dorner, J.W. and Horn, B.W. (2007). Separate and combined applications of nontoxigenic *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* for biocontrol of aflatoxin in peanuts. *Mycopathol.* 163: 215-223.
- Fernández-Boga, M.A., Mauriz, E., Gómez, A. and Martín, J.F. (2009). Proteolytic activity, mycotoxins and andrastin A in *Penicillium roqueforti* strains isolated from Cabrales, Valdeón and Bejes-Tresviso local varieties of blue-veined cheeses. *Int. J. Food Microbiol.* 136: 18-25.
- Francis, R.G. and Burgess, L.W. (1977). Characteristics of two populations of *Fusarium roseum* 'Graminearum' in eastern Australia. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 68: 421-427.
- Frisvad, J.C. (1988). Fungal species and their specific production of mycotoxins. En: Samson, R.A. and van Reenen-Hoekstra, E.S. (Eds.), *Introduction to Foodborne Fungi*, 3<sup>a</sup>. Ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baam, pp. 239-249.
- Gams, W., Christensen, M., A. Onions, A.H.S., Pitt, J.I. and Samson, R.A. (1985). Infrageneric taxa of *Aspergillus*. En: Samson, R.A. and Pitt, J.I. (Eds.), *Advances in Penicillium and Aspergillus systematics*. Plenum Press, New York, pp. 55-61.
- Gock, M.A., Hocking, A.D., Pitt, J.I. and Poulos, P.G. (2003). Influence of temperature, water activity and pH on growth of some xerophilic fungi. *Int. J. Food Microbiol.* 81: 11-19.
- Goldblatt, L.A. (1969). *Aflatoxin: scientific background, control, and implications* Academic Press, Nueva York. pp.35

- Iacumin, L., Chiesa, L., Boscolo, D., Manzano, M., Cantoni, C., Orlic, S. and Comi, G. (2009). Moulds and ochratoxin A on surfaces of artisanal and industrial dry sausages. *Food Microbiol.* 26: 65-70.
- James, T.Y., F. Kauff, C. Schoch, P.B., Matheny, V., Hofstetter, C., Cox, G. et al. (2006). Reconstructing the early evolution of the fungi using a six gene phylogeny. *Nature* 443:818-822.
- Kozakiewicz Z. (1989). *Aspergillus* species on stored products. *Mycological Papers* 161, CAB International Mycological Institute, Oxon, 11: s40-s45.
- Glenn, A E. (2007). Mycotoxigenic *Fusarium* species in animal feed. *Anim. Feed Sci. Technol.* 137: 213-240.
- Häggbloom, P. (1990). Isolation of Roquefortine C from feed grain. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 2924-2926.
- Lacey, J. (1989). Pre-and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. *J. Appl. Bact. Symp. Suppl.* 67: 11S-25S.
- Lacey, J. and Magan, N. (1991). Fungi in cereal grains: their occurrence and water and temperature relations. En: Chelkowski, J (Ed.), *Cereal Grain-Mycotoxins, Fungi and Quality in Drying and Storage*. Elsevier Science Publishers B.V, Amsterdam, pp. 77-118.
- Lahali, R., Serrhini, M.N. and Jijakli, M.H. (2005). Studying and modelling the combined effect of temperature and water activity on the growth rate of *P. expansum*. *Int. J. Food Microbiol.* 103: 315-322.
- Larsen, T.O., Frisvad, J.C., Ravn, G. and Skaaning, T. (1998). Mycotoxin production by *Penicillium expansum* on blackcurrant and cherry juice. *Food Addit. Cont.* 15:671-675.
- Lew, A., Adler, A. and Edinger, W. (1991). Moliniformin and the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*). *Mycotoxin Res.* 7: 71-76.
- Logrieco, A., Bottalico, A., Mule, G., Moretti, A. and Perrone, G. (2003). Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. *Eur. J. Plant Pathol.* 109: 645-667.
- López-Díaz, T.M., Román-Blanco, C., García-Arias, M.T., García-Fernández, M.C. and García-López, M.L. (1995). Mycotoxins in two Spanish cheese varieties. *Food Microbiol.* 30: 391-395.
- Lund, F., Filtenborg, O. and Frisvad, J. C. (1995). Associated mycoflora of cheese. *Food Microbiol.* 12: 173-180.
- Lund, F., Filtenborg, O., Westall, S. and Frisvad, J.C., (1996). Associated mycoflora of rye bread. *Lett. Appl. Microbiol.* 23: 213-217.
- Lund, F. and Frisvald, J.C. (2003). *Penicillium verrucosum* in wheat and barley indicates presence of ochratoxin A. *J. Appl. Microbiol.* 95:1117-1123.
- Magnoli, C., Violante, M., Combina, M., Palacio, G. and Dalcero, A. (2003). Mycoflora and ochratoxin-producing strains of *Aspergillus* section *Nigri* in wine grapes in Argentina. *Lett. Appl. Microbiol.* 37: 179-184.
- Marín, S., Sanchis, V. and Magan, N. (1995). Water activity, temperature, and pH effects on growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates from maize. *Can. J. Microbiol.* 41: 1063-1070.

- Martins, M. L., Gimeno, A., Martins, H. M. and Bernardo, F. (2002). Co-occurrence of patulin and citrinin in Portuguese apples with rotten spots. *Food Addit. Contam.* 19: 568-574.
- Miller, J. D. (1994). Epidemiology of *Fusarium* ear diseases of cereals. En: Miller, J.D. and Trenholm, H.L. (Eds.), *Mycotoxins in grain: compounds other than aflatoxin*. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN. pp 19-35.
- Montani, M., Vaamonde, G., Resnik, S.L. and Buera, P. (1988). Temperature influence on *Penicillium citrinum* Thom growth and citrinin accumulation kinetics. *Int. J. Food. Microbiol.* 7: 115-122.
- Morales, H., Marín, s., Centelles, X., Ramos, A.J. and Sanchis, V. (2007). Cold and ambient deck storage prior to processing as a critical control point for patulin accumulation. *Int. J. Food Microbiol.* 116: 260-265.
- Morales, H., Sanchis, V., Coromines, J., Ramos, A. J. and Marin, S. (2008a). Inoculum size and intraspecific interactions affects *Penicillium expansum* growth and patulin accumulation in apples. *Food Microbiol.* 25: 378-385.
- Morales, H., Sanchis, V., Usall, J., Ramos, A. J. and Marín, S. (2008b). Effect of biocontrol agents *Candida sake* and *Pantoea agglomerans* on *Penicillium expansum* growth and patulin accumulation in apples. *International Journal of Food Microbiology*, 122, 61-67.
- Morales, H., Marín, S., Ramos, A.J. and Sanchis, V. (2010). Influence of post-harvest technologies applied during cold storage of apples in *Penicillium expansum* growth and patulin accumulation: A review. *Food Control* 21: 953-962.
- Nirenberg H. I. and O'Donnell, K. (1998). New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia* 90:434-458.
- O'Donnell K., Nirenberg H.I., Aoki, T. and Cigelnik E. (2000). A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: Detection of additional phylogenetically distinct species. *Mycoscience* 41: 61-78.
- Pardo, E., Marín, S., Ramos, A.J. and Sanchis, V. (2004). Occurrence of ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in green coffee from different origins. *Food Sci. Technol. Int.* 10:145-149.
- Partida-Martínez, L P., Flores de Looß, C., Ishida, K., Ishida, M., Roth, M., Buder, K. and Hertweck, C. (2007). Rhizonin, the first mycotoxin isolated from the zygomycota, is not a fungal metabolite but is produced by bacterial endosymbionts. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 793-79.
- Perrone, G., Susca, A., Stea, G. and Mulè, G. (2004). PCR assay for identification of *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus japonicus*. *Europ. J. Plant Pathol.* 110: 641-649.
- Petersson, S. and Schnürer, J. (1999). Growth of *Penicillium roqueforti*, *P. carneum*, and *P.paneum* during malfunctioning airtight storage of high-moisture grain cultivars. *Postharvest Biol.Technol.* 17: 47-54.
- Peterson, S.W. (2000). Phylogenetic relationships in *Aspergillus* based on rDNA sequence analysis. En: Samson, R.A. and Pitt, J.I. (Eds.). *Integration of modern taxonomic methods for Penicillium and Aspergillus classification*. Harwood Acad. Publ., Amsterdam. pp. 323-355.

- Piamontese, L., Solfrizzo, M. and Visconti, A. (2005). Occurrence of patulin in conventional and organic fruit products in Italy and subsequent exposure assessment. *Food Addit. Contam.* 22: 437-442.
- Pitt, J. I. and Hocking, A. D. (2007). *Fungi and food spoilage*. 3ª edición. London: Blackie Academic and Professional, Londres.
- Ramírez, M.L., Chulze, S. and Magan, N. (2006a). Temperature and water activity effects on growth and temporal deoxynivalenol production by two Argentinean strains of *Fusarium graminearum* on irradiated wheat grain. *Int. J. Food Microbiol.* 106: 291-296.
- Ramírez, M.L., Reynoso, M.M. Farnochi, M.C. and Chulze, S. (2006b) Vegetative compatibility and mycotoxin chemotypes among *Fusarium graminearum* (*Gibberella zeae*) isolates from wheat in Argentina. *Eur. J. Plant Pathol* 115:139-148.
- Raper, K.B. and Fennell, D.I. (1965). *The genus Aspergillus*. Williams & Wilkins, Baltimore. pp 686.
- Rosa, C.A.R., Chagas, W.A. and Veiga, C.E.M.O. (1985). Ocorrência natural de nefropatia micotóxica suína causada pela ingestão de cevada contaminada com citrinina. *Rev. Bras. Med. Veter.* 7:87-90.
- Sage, L., Krivobok, S., Delbos, E., Seigle-Murandi, F. and Creppy, E.E. (2002). Fungal flora and ochratoxin A production in grapes and musts from France. *J. Agric. Food Chem.* 50: 1306-1311.
- Saleemullah, I.Z, Khalil I.A. and Shah H.U. (2006). Aflatoxin contents of stored and artificially inoculated cereals and nuts. *Food Chem.* 98: 690-703.
- Samson R.A. (1992) Current taxonomic schemes of the genus *Aspergillus* and teleomorphs. En: J.W. Bennet and M.A. Klich (Eds.), *Aspergillus: Biology and Industrial Applications*. Butterworths-Heinemann, Boston. pp. 355-3909.
- Sautour, M., Dantigny, P., Divies, C. and Bensoussan, M. (2000). A temperature-type model for describing the relationship between fungal growth and water activity. *Int. J. Food Microbiol.* 67: 63-69.
- Serra, R., Abrunhosa, L., Kozakiewicz, Z. and Venâncio, A. (2003). Black *Aspergillus* species as ochratoxin A producers in Portuguese wine grapes. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 63-68.
- Serra, R., Braga, A.C. and Venâncio, A. (2005). Mycotoxin-producing and other fungi isolated from grapes for wine production, with particular emphasis on ochratoxin A. *Res. Microbiol.* 156: 515-521.
- Serra, R., Cabañes, F.J., Perrone, G., Castellà, G., Venâncio, A., Mulè, G. and Kozakiewicz, Z. (2006) *Aspergillus ibericus*: a new species of section *Nigri* isolated from grapes. *Mycologia*, 98: 295-306.
- Sheldon, J.L. (1904). A corn mold (*Fusarium moniliforme* sp.). *Agric. Exp. Stn. Nebr. Annu. Rep.* 17: 23-32.
- Simmons, E.G. (1986). *Alternaria* themes and variations (22-26). *Mycotaxon* 25: 287-308.

- Snowdon, A.L. (1990). Post-harvest Diseases and Disorders of Fruits and Vegetables. Vol. 1. General Introduction and Fruits. Boca Raton: CRC Press, Boca Raton. pp 302.
- Taniwaki, M.H., Teixeira, A.A., Teixeira, A.A.R., Meletti, M.A., Iamanaka, B.T., Carvalho, M.A., Pfenning, L.H., Almeida, A.R. and Pitt, J.I. (2005). The influence of fungi on the flavour of coffee beverages. En: ASIC 2004. 20th International Conference on Coffee Science, Bangalore, India, pp. 317-321.
- Udagawa, S. and Tatsuno, T. (2004). Safety of rice grains and mycotoxins – a historical review of yellow rice mycotoxicoses. *Yakushikagu Zasshi* 39: 321-342.
- Universidad de León (2007). Mohos en alimentos [En línea]: Alteraciones y micotoxinas [Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos]. [Consultado: 17 Noviembre 2010]. Disponible en Internet: <http://www3.unileon.es/personal/wwdhtld/tema%20micotoxinas%20y%20alteraciones.pdf>
- Usall, J., Teixido, N., Fons, E. and Viñas, I. (2000). Biological control of blue mould on apple by a strain of *Candida sake* under several controlled atmosphere conditions. *Int. J. Food Microbiol.* 58: 83-92.
- Usall, J., Teixido, N., Torres, R., de Eribe, X.O. and Viñas, I. (2001). Pilot tests of *Candida sake* (CPA-1) applications to control postharvest blue mold on apple fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 21: 147-156.
- Valero, A., Marín, S., Ramos, A.J. and Sanchis, V. (2008). Survey: Ochratoxin A in European special wines. *Food Chem.* 108: 593-599.
- Varga, J., Rigó, K., Tóth, B., Téren, T and Kozakiewicz, Z. (2003). Evolutionary relationships among *Aspergillus* species producing economically important mycotoxins. *Food Technol. Biotechnol.* 41: 29-36.
- Viñas, I., Vallverdú, N., Monllao, S., Usall, J. and Sanchis, V. (1993). Imazalil resistant *Penicillium* isolates from Spanish apple packinghouses. *Mycopathologia*, 123: 27-33.
- Wicklow, D.T., Dowd, P.F. and Gloer, J.B. (1994). Antiinsectan effects of *Aspergillus* metabolites. En: Powell, K.A., Perberdy, L. and Renwick, A. (Eds.), *The Biology of Aspergillus*. Plenum Press. New York. pp. 93-114.