

Hongos toxicogénicos asociados a trigos y cebadas de Castilla y León

C. SOLDEVILLA, C. VÁZQUEZ, B. PATIÑO, M. JURADO, M. T. GONZÁLEZ-JAÉN

La contaminación de cereales con especies fúngicas productoras de toxinas es uno de los riesgos alimentarios más importantes. La prevención es una estrategia clave para evitar su entrada en la cadena alimentaria y supone la identificación y control de las especies productoras. Este estudio describe los niveles de contaminación fúngica en 98 muestras de semillas secas de cereales, trigo blando y cebada de primavera de diversas variedades y localidades de la Comunidad de Castilla y León, con referencia especial a las especies productoras de toxinas. Los resultados han revelado niveles de contaminación medios y bajos para el conjunto de trigos y cebadas, respectivamente. Sin embargo, están presentes otras especies productoras de OTA como *A. niger* y *A. fumigatus*. Asimismo, se ha detectado también la presencia de cepas de *Fusarium moniliforme*, descritas como productoras de fumonisinas. Es importante señalar la elevada incidencia de cepas de *Penicillium* y *Alternaria*, entre las que se encuentran especies productoras de otras toxinas consideradas hasta ahora de menor importancia. Por todo ello, las especies que podrían considerarse un riesgo potencial en la actualidad por su capacidad toxicogénica serían *Aspergillus niger*, *A. fumigatus* y *F. moniliforme* que corresponderían a las toxinas OTA y fumonisinas.

C. SOLDEVILLA. Departamento de Producción Vegetal, Botánica y Protección Vegetal, Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Forestal, Universidad Politécnica de Madrid.

C. VÁZQUEZ, B. PATIÑO. Departamento de Microbiología III. Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid. 28040-Madrid.

M. JURADO, M. T. GONZÁLEZ-JAÉN. Genética, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid. 28040-Madrid.

Palabras clave: Toxinas, cereales, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*.

INTRODUCCIÓN

La presencia de micotoxinas en los cereales destinados al consumo humano y animal es un riesgo importante como se reconoce en los Codex Alimentarius publicados por las organizaciones internacionales FAO y WHO y en las normativas que se están elaborando sobre límites que se deben establecer en cuanto a la presencia de las principales toxinas en los alimentos y materias primas en la Unión Europea. Los cereales y sus derivados reciben una atención especial por su elevada contribu-

ción a la dieta básica. Las principales toxinas, consideradas por los graves efectos crónicos y agudos que producen y su estabilidad durante los procesos de elaboración de los alimentos y piensos son la ocratoxina A (OTA), tricotecenos y fumonisinas. La OTA es sintetizada por especies fúngicas de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* mientras que los otros dos grupos de compuestos son sintetizados por distintas especies del género *Fusarium*. Todas estas especies pueden formar parte de la cohorte de agentes fúngicos relacionados con las enfermedades criptogámicas de cualquier material

vegetal. Las especies de *Fusarium* producen las toxinas principalmente durante la colonización y, a menudo la infección severa de las plantas especialmente en la fase de floración y formación de la semilla. La producción de la toxina ocurre en muchos casos sin que haya una sintomatología aparente (NICHOLSON *et al.*, 2003; JURADO *et al.*, 2004). En los casos de *Aspergillus* y *Penicillium* la producción de la toxina tiene lugar durante y, especialmente, después de la cosecha, en la fase de almacenamiento y procesado. En cuanto a las normativas europeas que regulan los niveles de estas toxinas, en el caso de OTA, la normativa europea vigente ha establecido límites a su presencia en cereales (0,5 µg/Kg) para alimentos infantiles (Comisión Regulation (EC) No683/2004), de 3 a 10 µg/Kg para otros alimentos de consumo humano (cereales y derivados, uvas y derivados) (Directiva 2002/27/EC) y entre 5 y 300 µg/Kg para consumo animal (VARGA *et al.*, 2001) y para aflatoxinas, 0,10 µg/Kg para la aflatoxina B₁ y 0,025 µg/Kg para la M₁ en alimentos infantiles (Comisión Regulation (EC) No683/2004), entre 2 y 8 µg/Kg para la aflatoxina B₁ y entre 4 y 15 µg/Kg para otras aflatoxinas (Directiva 98/53/EC). Una actualización aparecida recientemente atañe especialmente a las toxinas producidas por *Fusarium* (Directiva 2005/38/CE y Reglamento nº 856/2005/CE).

El diseño de estrategias de control apropiadas y prevención de las principales especies micotoxigénicas dependen del conocimiento de su distribución en una región geográfica dada, ya que la climatología, la localización geográfica, el tipo de cultivo vegetal (hospedador) y la composición de la microflora acompañante juegan un papel esencial en esa distribución (MAGAN *et al.*, 2003; DOOHAN *et al.*, 2003). Puesto que los cereales son alimentos básicos en la dieta, una elevada incidencia de estos hongos, sugieren un riesgo potencial para la salud humana y la necesidad de disponer de más datos para evitar o prevenir la entrada en la cadena alimentaria.

Los problemas criptogámicos en cereales en España no parecen haber sido relevantes,

sólo se consignan citas sin incidentes (MARÍN, 1985; 1986; MARÍN y AGUIRRE, 1985; MARÍN *et al.*, 1992; SEGARRA *et al.*, 1993). Desde el año 2000 a 2003 se ha seguido la misma tónica en cebada en lo que se refiere a *Fusarium*, aunque se detecta una tendencia al aumento según se indica en los informes del Grupo de Trabajo de Plagas y cultivos extensivos (MAPA, 2000; 2001; 2002; 2003). Por otra parte, los escasos estudios realizados sobre algunas de las toxinas principales en España revelan su presencia en cereales y alimentos derivados (ARAGUAS *et al.*, 2003; LEGARDA y BURDASPAL, 2001; MATEO *et al.*, 2004; SANCHIS *et al.*, 1994), lo que necesariamente implica la presencia en los cultivos de alguna de las especies toxicogénicas responsables de su producción.

El objetivo de este estudio ha sido conocer el nivel de contaminación fúngica de trigos y cebadas de las diversas variedades, atendiendo especialmente a la presencia de las especies toxicogénicas. Esta Comunidad es la principal productora de cebada y trigo blando de España.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material analizado

Se analizaron 60 muestras de trigo blando (*Triticum aestivum* L.) procedentes de distintas localidades de la Comunidad de Castilla y León. Cabe destacar también el análisis de muestras de Albacete y además de seis muestras de trigo importado, todas ellas proporcionadas por la Fundación Centro Tecnológico de Cereales de Castilla y León (Laboratorio CETECE). En todos los casos se analizó al menos una muestra por variedad y localidad con un total de 225 semillas analizadas por lote. Hubo casos en que se analizaron diferentes lotes, hasta un máximo de tres, de una misma procedencia y variedad. Los datos de Procedencia, variedad y número de lotes analizados quedan especificados en el Cuadro 1.

Se incluyeron también en este estudio 38 muestras de cebada primavera (*Hordeum vulgare* L.) procedentes de tres localidades

Cuadro 1. Procedencias y Variedades analizadas de semillas de Trigo blando

VARIEDAD	PROCEDENCIA	VARIEDAD	PROCEDENCIA	
Astral	Corese (ZA) (1)	I Sengrain SRP	La Pedraja del Portillo (VA) (3)	
	Medina del Campo (VA) (3)		Manda	Burgos (BU) (1)
	Zamora (ZA) (1)		Marius	Abajas de Bureba (BU) (1)
B3	Burgos (BU) (1)		Adrados (SG) (3)	
Babel	Tordesillas (VA) (1)		Cevico (PA) (1)	
Bon Pain	Amusco (PA) (2)		Palenzuela (PA) (1)	
	Valladolid (VA) (2)		Turégano (SG) (3)	
Califa	Tordesillas (VA) (1)		Villanubla (VA) (1)	
Cezanne	Alaejos (VA) (1)	Rinconada	Olivares de Duero (VA) (1)	
	Fombellida (VA) (1)	Soisson	Briviesca (BU) (1)	
	Geria (VA) (1)		Cogeces del Monte (VA) (1)	
	Corese (ZA) (1)			
Estero	Albacete (AL) (3)		Tortolés de Esgueva (VA) (2)	
Etecho	Villafrechos (VA) (1)		Villabáñez (VA) (1)	
Garant SRP	Villalpando (ZA) (3)			
Gazul	Cogeces del Monte (VA) (1)	Thaber	Roa de Duero (BU) (1)	
	Corcos del Valle (VA) (1)	Temier	Íscar (3)	
	Paredes de Nava (PA) (1)	Americano	Importado (3)	
	Santovenia (VA) (1)	Alivier	Importado (1)	
	Tordesillas (VA) (1)	Canadiense	Importado (2)	
	Vega de Valdetronco (VA) (2)			

(AL) Albacete; (BU) Burgos; (PA) Palencia; (VA) Valladolid; (ZA) Zamora

(*) nº de lotes de semillas analizadas

de la provincia de Burgos y proporcionadas por el Laboratorio Agrario Regional (Dirección General de Producción y Agropecuaria) de la Junta de Castilla y León. Al igual que el caso del análisis del trigo se actuó de la misma manera con la cebada. Los datos de Procedencia, variedad y número de lotes analizadas quedan especificado en el Cuadro 2.

Todas las muestras analizadas, tanto de trigo blando como de cebada primavera se cosecharon en el año 2002. Las muestras se trasladaron desde sus respectivos centros de origen, se dataron y almacenaron en cámara frigorífica a 15 °C hasta el momento de su análisis.

Métodos de cultivo y aislamientos fúngicos.

Se tomó como referencia el Método recomendado por las Reglas Internacionales para

Ensayos de Semillas adoptado en el Congreso de la ISTA, celebrado en Varsovia en el año 1974 (ISTA, 1999). Se analizaron un total de 75 semillas por muestra por cada medio de cultivo utilizado. Las semillas fueron desinfectadas previamente para eliminar determinados micromicetos indeseables siguiendo la siguiente pauta: 5 minutos en etanol al 96 %, 5 minutos en hipoclorito sódico (10%), 1 minuto en etanol al 96 % y aclarado en agua bidestilada. Posteriormente, se secaron a temperatura ambiente para su siembra en una campana de flujo laminar, en los diferentes medios de cultivo agarizados para el desarrollo de especies fúngicas. Los medios de cultivo empleados garantizan la formación de micelios y estructuras de reconocimiento de un amplio espectro de agentes y por ello se eligieron los medios generales PDA (Patata-Dextrosa-Agar) (Oxoid, Ltd. Cod. Ref. CM 139) y Extracto de Agar-

Cuadro 2. Procedencias y Variedades analizadas de semillas de Cebada primavera

VARIEDAD	PROCEDENCIA	VARIEDAD	PROCEDENCIA
Adonis	Tobar (1)	Marlis	Ibrillos (1)
	Treviño (1)		Tobar (1)
Aspen	Tobar (1)		Treviño (1)
	Treviño (1)	Neruda	Ibrillos (1)
Astoria	Tobar (1)		Tobar (1)
	Treviño (1)		Treviño (1)
County	Tobar (1)	Prestige	Ibrillos (1)
	Treviño (1)		Tobar (1)
Culma	Tobar (1)		Treviño (1)
	Treviño (1)	Riviera	Tobar (1)
Erika	Tobar (1)		Treviño (1)
	Treviño (1)	Sabel	Ibrillos (1)
Graphic	Ibrillos (1)		Tobar (1)
	Tobar (1)	Scarlet	Ibrillos (1)
	Treviño (1)		Tobar (1)
Jersey	Ibrillos (1)	Sultane	Ibrillos (1)
	Tobar (1)		Tobar (1)
	Treviño (1)		
Linden	Ibrillos (1)		
	Tobar (1)		
	Treviño (1)		

Todas las procedencias pertenecen a la provincia de Burgos
(* n° de lotes de semillas analizadas)

Malta (AM Cultimed, Ltd. Cod. Ref. 413781.1210) y el medio de cultivo Komada, selectivo para *Fusarium* y recomendado por KOMADA (1975). Posteriormente, se hicieron lecturas cada 7 días para el control de las colonias fúngicas y repicado a Placas de Petri para su aislamiento e identificación. Las colonias fúngicas, especialmente aquellas potencialmente toxicogénicas fueron repicadas en PDA.

Identificación de los agentes fúngicos encontrados.

Para la determinación de los agentes fúngicos presentes en el estudio se han utilizado diversas obras generales (BARNETT y HUNTER, 1998; CARMICHAEL *et al.*, 1980; KIFFER y MORELET, 1997; SMITH *et al.*, 1992; SUTTON *et al.*, 1998; VON ARX, 1981; WATANABE, 1994). En el caso de géneros con especies micotóxicas se han consultados textos más

Cuadro 3. Número de semillas sanas, semillas infectadas y semillas no germinadas sin síntomas de infección aparente de trigo blando y cebada primavera

Trigo		Cebada	
Semillas sanas	1.199	Semillas sanas	2.236
Semillas no germinadas sin síntomas	4.880	Semillas no germinadas sin síntomas	3.262
Semillas infectadas	7.420	Semillas infectadas	3.052
TOTAL	13.500	TOTAL	8.550

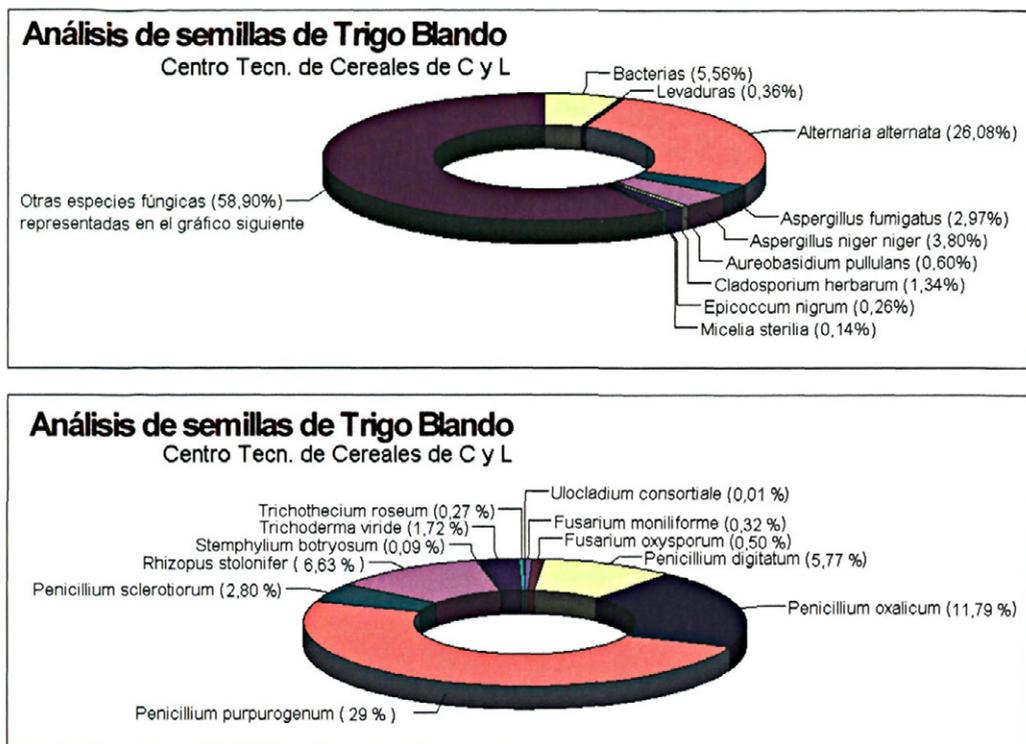


Figura 1. UFC en porcentaje, de las especies fúngicas, levaduras y bacterias desarrolladas en las semillas de trigo blando.

específicos (KLICH y PITT, 1998; NELSON *et al.*, 1983; PITT, 2000; RAMÍREZ, 1982).

Siempre se han tenido en cuenta características morfológicas y biométricas para su determinación que quedan recogidas en los textos anteriormente citados. Aspectos macroscópicos como coloración de colonia tanto en zona aérea como reverso de placa, rapidez de crecimiento, presencia de órganos o cuerpos de resistencia y aspectos microscópicos como desarrollo de conidióforos, forma y disposición, forma y tamaño de conidios, son los elementos utilizados para tal fin.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cereales son uno de los sustratos naturales que pueden ser fácilmente coloni-

zados por especies fúngicas, incluyendo cepas productoras de micotoxinas y por lo tanto potencialmente contaminadores de alimentos y derivados.

Aunque no se han seguido los métodos propuestos por el ISTA (ISTA, 1999) para el desarrollo de Test de Germinación, se observó que después de realizar las siembras en los diferentes medios de cultivo agarizados tanto de trigo blando como de cebada primavera aparecía un porcentaje considerable de semillas infectadas por agentes fúngicos. En el caso del trigo blando se observó un 55% de semillas con micelios fúngicos (7.420 semillas), junto a un 36,2 % de semillas que no habían germinado pero que no desarrollaron presencia de colonizadores. En el caso de la cebada los porcentajes fueron menores ya que el porcentaje de las semillas con pre-

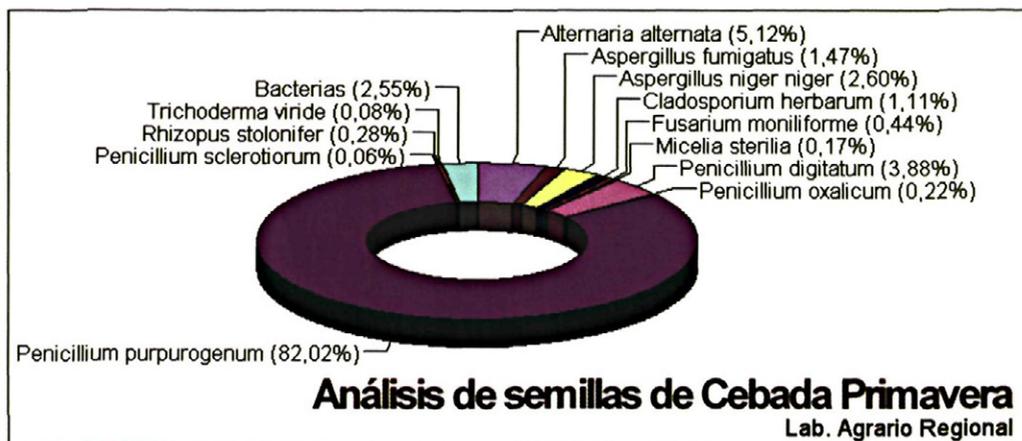


Figura 2. UFC en porcentaje, de las especies fúngicas y bacterias desarrolladas en las semillas de cebada primavera.

sencia de micelios fúngicos fue del 35,7 % (3.052 semillas) junto a un 38,2 % de semillas no germinadas pero sin síntomas. Los resultados aparecen en el Cuadro 3.

Del total de semillas analizadas de trigo blando, se han aislado e identificado 18 especies fúngicas, junto a un porcentaje reducido (menos del 6 %) de levaduras y bacterias. En el total de semillas analizadas de cebada primavera se aislaron 12 micetes, con un porcentaje del 2,55 % de colonias bacterianas (ver Figuras 1 y 2). Las distribuciones de los valores de contaminación total, expresados como Unidades Formadoras de Colonia (UFC), y de las diferentes especies fúngicas obtenidas para cada muestra con los medios PDA y Agar-Malta fue muy similar. En el caso del medio de Komada, se observó un mayor número de cepas de *Fusarium* que en los dos medios generales PDA y Agar-Malta.

Los resultados del análisis de la flora fúngica asociada a las muestras de semillas de trigo blando y cebada primavera se resumen en los Cuadros 4 y 5 respectivamente. Se adjuntan los gráficos que recogen la representación total en porcentaje de las UFC de las especies fúngicas encontradas en trigo blando y cebada primavera (Figura 1 y 2).

De las 60 muestras de trigo blando analizadas, entre procedencias y variedades, se

ha podido observar que la especie fúngica más representada en el conjunto de todas las variedades y procedencia es *Alternaria alternata* con el 91,66 % (55 muestras), seguido de *Penicillium purpurogenum* con un 73,33 % (44 muestras), *Aspergillus fumigatus* con un 55 % (33 muestras) y *Aspergillus niger* var. *niger* con un 36,66 % (22 muestras).

Con respecto a la cebada primavera se han analizado 38 muestras diferentes entre variedades y procedencias, siendo el micete más presente *Penicillium purpurogenum* con el 100% (todas las muestras), junto a *Aspergillus niger* var. *niger* con el 76,32 % (29 muestras), *Penicillium digitatum* con el 45,75 % (17 muestras) y *Aspergillus fumigatus* con 45,75 % (17 muestras).

La mayoría de los hongos que forman parte de la micoflora de las semillas de trigo y cebada son considerados como parásitos oportunistas de postcosecha y de almacenaje (AGRIOS, 1997), de los cuales un grupo reducido son productores de algún tipo de micotoxina. *Cladosporium herbarum*, *Trichoderma viride*, *Trichotecium roseum* y *Rhizopus stolonifer* están representados en muy poca proporción en trigo blando (*C. herbarum*, en un 35% de las muestras, *T. viride* en un 11,66% de las muestras, *T. roseum*, en un 6,66% de las

Cuadro 4. UFC de las especies fúngicas encontradas en la semillas de trigo blando, en los diferentes medios de cultivo agarizado en las diferentes variedades y procedencias analizadas

ESPECIE FÚNGICA	PDA	AMALTA	K
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	689	764	429
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fres.	46	32	136
<i>Aspergillus niger</i> var. <i>niger</i> Van Tieghem	112	144	18
<i>Aureobasidium pullulans</i> (De Bary) Arnaud	36	7	0
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link	54	18	25
<i>Epicoccum nigrum</i> Link	14	5	0
<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon	0	0	23
<i>Fusarium oxysporum</i> Achlecht emend Snyder & Hans	9	0	27
Micelia sterilia	0	0	10
<i>Penicillium digitatum</i> (Pers.: Fr.) Sacc	84	135	197
<i>Penicillium oxalicum</i> Currie & Thom	273	325	253
<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll	692	689	712
<i>Penicillium sclerotiorum</i> Beyma	59	95	48
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb. ex Fr.) Vuill.	219	221	38
<i>Stemphylium botryosum</i> Wallr.	5	2	0
<i>Trichoderma viride</i> Pers.; Fr.	67	57	0
<i>Trichothecium roseum</i> (Pers.: Fr.) Link	12	4	3
<i>Ulocladium consortiale</i> (Thuem.) E. Simmons	0	0	1

Cuadro 5. UFC de las especies fúngicas encontradas en la semillas cebada primavera, en los diferentes medios de cultivo agarizado en las diferentes variedades y procedencias analizadas

ESPECIE FÚNGICA	PDA	AMALTA	K
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	103	78	4
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fres.	19	14	20
<i>Aspergillus niger</i> var. <i>niger</i> Van Tieghem	42	48	4
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link	14	5	21
<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon	2	3	11
Micelia sterilia	0	6	0
<i>Penicillium digitatum</i> (Pers.: Fr.) Sacc	78	42	20
<i>Penicillium oxalicum</i> Currie & Thom	3	0	5
<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll	1185	1191	585
<i>Penicillium sclerotiorum</i> Beyma	2	0	0
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb. ex Fr.) Vuill.	10	0	0
<i>Trichoderma viride</i> Pers. Fr.	0	3	0

muestras y *R. stolonifer* en un 18,33% de las muestras) y en cebada primavera (*C. herbarum* en un 36,84% de las muestras, *T. viride* en un 2,63% de las muestras y *R. stolonifer* en un 2,63% de las muestras), poniendo de manifiesto la capacidad que tienen estos hongos de

sobrevivir a temperaturas y humedades relativas frecuentes en el almacenaje de semillas (PALAZÓN y PALAZÓN, 1996).

Hay que destacar, que si bien no están representadas en estos recuentos las dos especies principales productoras de ocratoxi-

na (OTA) como son *A. ochraceus* y *P. verrucosum*, sin embargo, si están presentes otras especies señaladas como productoras. Así *A. niger* está presente en el 36,66 % de las muestras analizadas, considerada como especie productora de OTA (ABARCA *et al.*, 1994) o *A. fumigatus* presente en el 55 % de las muestras. Este último hongo también es considerado productor de OTA (VARGA *et al.*, 2001, ABARCA *et al.*, 1994).

La comparación de los porcentajes de muestras contaminadas en trigo blando y cebada de primavera reveló valores superiores en la cebada para las especies micotoxigénicas *A. niger*, *A. fumigatus*, *F. moniliforme*, *P. sclerotiorum* y *P. purpurogenum*. Si se atiende al porcentaje de muestras infectadas con una especie particular, cabe destacar *Penicillium purpurogenum* por su incidencia, ya que está presente en el 100% de las muestras analizadas. La presencia de *A. alternata* y *P. digitatum* también fue elevada como en el caso del trigo (un 21,09 % y un 45,75 % de las muestras analizadas, respectivamente). Las especies potencialmente productoras de OTA, *A. niger* y *A. fumigatus*, están presentes en las muestras analizadas en un 76,32 % y un 45,75 %, respectivamente. Con respecto a *F. moniliforme*, la proporción de cepas presentes en cebada (23,68 %) es mayor que en trigo blando. No se ha detectado la presencia de especies del grupo de *A. flavus*, productoras de aflatoxinas, lo que no apoyaría la existencia de un riesgo potencial debido a estas toxinas.

La especie que destaca por su mayor incidencia es *Penicillium purpurogenum*, presente en el 73 % de las muestras de trigo blando y en el 100 % de las de cebada primavera, y que denota una infección en la testa de las semillas. Aunque dicha especie no está considerada propiamente como un patógeno (RAMÍREZ, 1982; PITT, 2000), la rápida colonización de la testa puede impedir o reducir la presencia de otras especies fúngicas más importantes. Esta especie sí se considera productora de toxinas, entre las que se encuentran la rubrotóxina B y el ácido penicílico, aunque no están sujetas a ninguna normativa en la actualidad.

La incidencia de *Alternaria alternata* también fue notable tanto en trigo blando (presente en torno al 92 % de las muestras) como en cebada primavera (alrededor del 21 % de las muestras). Esta contaminación procede probablemente de la zona de cultivo y su elevada incidencia coincide con los datos observados en el Sur de Europa, donde ésta especie afecta también seriamente a otros cultivos como el tomate, la aceituna y los cítricos. Este género produce un ennegrecimiento del grano, lo que afecta a la calidad de la harina, y produce varias toxinas de gran capacidad toxigénica en humanos y animales, entre ellas el ácido tenuazoico, los alternarioles y las altertoxinas. No existe en la actualidad suficiente información acerca de estas toxinas para elaborar normativas o recomendaciones sobre límites. Sin embargo, su importancia es probablemente mayor de la que se le concede en la actualidad debido a su elevada incidencia particularmente en el Sur de Europa (BOTTALICO y LOGRIECO, 1998).

A. niger es una especie cosmopolita (VARGA *et al.*, 2001) que no sólo está presente en cereales sino también en uvas (ABARCA *et al.*, 1994; BATTILANI *et al.*, 2003; CABAÑES *et al.*, 2002; GONZÁLEZ-SALGADO *et al.*, 2005; PEITO y VENANCIO, 2004). Como ya se ha señalado, OTA es una toxina peligrosa para la que existe una normativa sobre sus límites en cereales y productos derivados, y dado que su incidencia es elevada en las muestras de trigo blando y cebada (36,66 % y 76,32 %, respectivamente), es aconsejable la detección y el control de las especies de *Aspergillus* para evitar su proliferación en los cereales producidos en esta región española.

En la determinación de los aislamientos de *Fusarium* se ha utilizando la sistemática tradicional (NELSON *et al.*, 1983), dado que se trata de un grupo con una taxonomía controvertida que está sufriendo cambios actualmente. Se han identificado 59 aislamientos en las semillas de trigo blando, de los cuales 23 corresponden a *F. moniliforme* encontrándose presente en 2 muestras (3,33%), mien-

tras que en las semillas de cebada primavera fueron 16 los aislamientos, todos de *F. moniliforme*, presentes en 9 muestras (23,68%).

Con respecto a las infecciones que pueden sufrir los cereales, en concreto el grano de trigo blando y de cebada primavera, uno de los agentes más importantes es *Fusarium moniliforme* Sheldon, también conocido por su teleomorfo *Gibberella fujikuroi* Wollenw. La producción de microconidios, macroconidios y también esclerocios como cuerpos de resistencia hace que sea una de las especies más contaminantes y de mayor facilidad de propagación dentro del género (NELSON *et al.*, 1983). La enfermedad puede desarrollarse en la espiguilla, cubriéndola con un micelio blancuzco ("Añublo Blanco del Trigo"), provocando muerte de la misma y aborto de los granos (URQUIJO *et al.*, 1971), o bien en la semilla formando parte del amplio complejo fitopatológico del "Damping-off". Este género fúngico tiene una amplia especificidad dentro de las especies agronómicas (TELLO, 1990) y facilidad de contaminación aérea (MILLER, 1994). Hay que tener en cuenta que *Fusarium* es un hongo capaz de producir daños en campo y que requiere condiciones ambientales diferentes de las que necesitan especies del género *Aspergillus* o *Penicillium*, claros ejemplos de hongos de almacenamiento, lo que explicaría la reducida incidencia encontrada en las muestras de semillas. Su capacidad de producir fumonisinas y la considerable incidencia de éstas en cereales (MATEO *et al.*, 2004; SANCHIS *et al.*, 1994; MORETTI *et al.*, 2004; PEITO y VENANCIO, 2004) aconsejan vigilar su presencia de forma especial en aquellos destinados al consumo humano.

No se ha detectado ninguna de las otras especies típicas de *Fusarium* asociadas a cereales, como *F. graminearum* o *F. culmorum*. Sin embargo, la evaluación de la presencia de estas especies debe hacerse en campo donde las condiciones son más idóneas. Un estudio realizado en campos de cultivo de trigo duro en la primavera del año 2003 en Andalucía, detectó la presencia de las especies *F. graminearum*, *F. culmorum* y *F. equiseti*, aún cuando la incidencia de la enfermedad asociada a estas especies en las plantas era baja (JURADO *et al.*, 2004). Por ello, nuestros resultados no pueden considerarse un indicativo de la ausencia de tricotecenos, grupo de toxinas sintetizadas por las especies antes mencionadas.

En conclusión, aunque las muestras de trigo presentaron niveles de contaminación ligeramente superiores a la cebada primavera, en cebada se encontraron los mayores índices de contaminación con las especies críticas *A. niger*, *A. fumigatus* y *F. moniliforme*. Por ello podría considerarse que el consumo de cebada procedente de las regiones analizadas representaría un riesgo potencial mayor que el consumo de trigo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el MCYT (AGL2001/2974/C05/5 y AGL2004-075549-C05-05) y por la Comunidad de Madrid (07G/0007/2003 1). M. Jurado es becario del MCYT.

Agradecemos la colaboración prestada a la Fundación Centro Tecnológico de Cereales de Castilla y León y al Laboratorio Agrario Regional de la Junta de Castilla y León.

ABSTRACT

SOLDEVILLA C., C. VÁZQUEZ, B. PATIÑO, M. JURADO, M. T. GONZÁLEZ-JAÉN. 2005. Toxicogenic fungi associated to wheats and barleys of Castilla and León. *Bol. San. Veg. Plagas*, 31: 519-529.

Mycotoxin contamination in cereals is one of the most important food hazards. Prevention is the key strategy in order to avoid their entrance in the food chain and this conveys both the identification and control of these species. This study describes the levels of fungal contamination in 98 samples of dry seeds of cereals, soft wheat and spring barley from diverse varieties and localities in the Community of Castilla y León, and focuses on the fungal species producing toxins. The results show medium and low levels of contamination for the whole varieties of wheat and barley. However, other species producing OTA such as *A. niger* and *A. fumigatus* have been taken into account. Similarly, it has also been detected the presence of *Fusarium moliniforme* strains, which are known to produce fumonisins. It is remarkable the high incidence of *Penicillium* and *Alternaria* strains, among which may be found other producing-toxin species of a lesser importance. It is for this reason that *Aspergillus niger*, *A. fumigatus* and *F. moniliforme*, producing OTA toxins and fumonisins, could nowadays be considered potentially hazardous due to their toxicogenic capacity.

Key words: mycotoxins, cereals, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*.

REFERENCIAS

- ABARCA, M. L.; BRAGULAT, M. R.; CASTELLÁ, G.; CABAÑES, F. J., 1994. Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60: 2650-2652.
- AGRIOS, G. N., 1997. *Plant Pathology*. 4th Ed. *Fitopatología*. Academic Press, S. Diego.
- ARAGUAS, C.; GONZÁLEZ-PEÑAS, E.; LOPEZ DE CERAIN, A.; BELLO, J., 2003. Acerca de la posible contaminación por ocratoxina en alimentos. I. Cereales cultivados en diversas zonas geográficas de la Comunidad Foral de Navarra. *Alimentaria*: 23-29.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. A., 1998. *Illustrated genera of imperfecti fungi*. 4th Ed., APS Press, The American Phytopathological Soc., St. Paul, Minnesota, USA, 218.
- BATTILANI, P.; GIORNI, P.; PIETRI, A., 2003. Epidemiology of toxin-producing fungi and ochratoxin A occurrence in grape. *Eur. J. Plant Pathol.*, 109: 715-722.
- BOTTALICO, A.; LOGRIECO, A., 1998. Toxicogenic *Alternaria* species. En: *Mycotoxins in Agricultura and Food Safety*. Sinha, K.K. y Bhatnagar, D. (eds.): 65-108. Marcel Dekker, Inc., N. York.
- CABAÑES, F. J.; ACCENSI, F.; BRAGULAT, M. R.; ABARCA, M. L.; CASTELLA, S.; MINGUEZ, S.; PONS, A., 2002. What is the source of ochratoxin A in wine?. *Int. J. Food Microbiol.*, 79: 213-215.
- CARMICHAEL, J. W.; BRYCEKENDRICK, W.; CONNERS, I. L., 1980. *The genera of Hyphomycetes*. The University of Alberta, Press. Edmonton, Alberta Canada, 386.
- DOOHAN, F. M.; BRENNAN, J.; COOKE, B. M., 2003. Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals. *Eur. J. Plant Pathol.*, 109: 755-768.
- GONZÁLEZ-SALGADO, A.; PATIÑO, B.; VÁZQUEZ, C.; GONZÁLEZ-JAÉN, M. T., 2005. Discrimination of *Aspergillus niger* and other *Aspergillus* species belonging to section *Nigri* by PCR assays. *FEMS Microbiol. Lett.*, 245: 353-361.
- ISTA, 1999. Rules. Proceedings of the International Seed Testing Association. *Seed Science and Technology*, 27, supplement.
- JURADO, M.; VÁZQUEZ, C.; LÓPEZ-ERRASQUIN, E.; PATIÑO, B.; GONZÁLEZ-JAÉN, M. T., 2004. Analysis of the occurrence of *Fusarium* species in Spanish cereals by PCR assays. Proc. 2nd Int. Symp. On *Fusarium* Head Blight. Orlando, FL (U.S.A.): 460-464.
- KIFFER, E.; MORELET, M., 1997. *Les Deuteromycetes. Classification et clés d'identification générique*. INRA Editions, Paris, 306.
- KLICH, M. A.; PITT, J. I., 1998. *A laboratory guide to common Aspergillus species and their teleomorphs*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. North Ryde, Australia. 116.
- KOMADA, H., 1975. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Rev. Plant Prot. Res.*, 8: 114-125.
- LEGARDA, T.; BURDASPAL, P., 2001. Presencia de ochratoxina A en muestras de pan comercializado en España y en muestras procedentes de doce países extranjeros. *Alimentaria* Abril: 89-96.
- MAGAN, N.; HOPE, R.; CAIRNS, V.; ALDRED, D., 2003. Post-harvest fungal ecology: Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. *Eur. J. Plant Pathol.*, 109: 723-730.
- MAPA, 2000. *Reuniones Anuales de los Grupos de Trabajo Fitosanitarios 2000*. Mapa. Madrid. 289.
- MAPA, 2001. *Reuniones Anuales de los Grupos de Trabajo Fitosanitarios 2001*. Mapa. Madrid. 279.
- MAPA, 2002. *Reuniones Anuales de los Grupos de Trabajo Fitosanitarios 2002*. Mapa. Madrid. 281.
- MAPA, 2003. *Reuniones Anuales de los Grupos de Trabajo Fitosanitarios 2003*. Mapa. Madrid. 342.

- MARÍN, J. P., 1985. Micosis del trigo en Andalucía occidental. *An. INIA, Serv. Agric.*, **28**: 105-117.
- MARÍN, J. P., 1986. Hongos asociados con el mal del pie del trigo en Andalucía occidental. *Invest. Agr. Prot. Veg.*, **1**: 409-431
- MARÍN, J. P.; AGUIRRE, J., 1985. Enfermedades del trigo causadas por especies de *Septoria* en Andalucía occidental. *An. INIA, Serv. Agric.*, **28**: 119-145.
- MARÍN, J. P.; SEGARRA, J.; ALMACELLAS, J., 1992. Enfermedades de los cereales en Cataluña durante 1998-90. *Invest. Agr. Prot. Veg.*, **7** (2): 261-275.
- MATEO, R., MEDINA, A., GIMENO-ADELANTADO, J. V., JIMENEZ, M., 2004. An overview on the status of toxigenic fungi and mycotoxins in Spain. En: *An overview on toxigenic fungi and micotoxins in Europe*. Logrieco, A. y Visconti, A. (eds.): 219-235.
- MILLÁN, R., 2003. Análisis de la evolución de superficies y producciones en los últimos 15 años. *Phytoma España*, **150**: 17-26.
- MILLER, J. D., 1994. *Epidemiology of Fusarium ear diseases of cereals*. In: *Mycotoxins in Grain: Compounds other than Aflatoxins*. MILLER, J.D.; TRENHOLM, H.L. (Eds.). Eagan Press, St Paul, Minn: 19-35.
- MORETTI, A. ; LOGRIECO, A.; VISCONTI, A.; BOTTALICO, A., 2004. *An overview of mycotoxins and toxicogenic fungi in Italy*. En: *An overview on toxicogenic fungi and mycotoxins in Europe.*, LOGRIECO, A. and VISCONTI (Eds.): 141-160, A. Kluwer Academic Publishers.
- NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A. & MARASAS, W. F. O., 1983. *Fusarium species. An Illustrated Manual for identification*. The Pennsylvania State University Press. Pennsylvania. 193.
- NICHOLSON, P., CHANDLER, E., DRAEGER, R. C., GOSMAN, N. E., SIMPSON, D. R., THOMSETT, M., WILSON, A. H., 2003. Molecular tools to study epidemiology and toxicology of *Fusarium* head blight of cereals. *Eur. J. Plant Pathol.* **109**: 691-703.
- PALAZÓN, I.; PALAZÓN, C. F., 1996. *Micosis de los Productos cosechados*. En: *Patología Vegetal*. Llácer, G.; López, M.M.; Trapero, A. & Bello, A. (EDS). SEF. Madrid: 967-994.
- PEITO, A.; VENANCIO, A., 2004. An overview of mycotoxins and toxicogenic fungi in Portugal. En: *An overview on toxicogenic fungi and mycotoxins in Europe.*, Logrieco, A. and Visconti (Eds.): 173-184, A. Kluwer Academic Publishers.
- PITT, J. I., 2000. *A laboratory guide to common Penicillium species*. Food Science Australia, SCIRO. North Ryde, Australia. 197.
- RAMÍREZ, C., 1982. *Manual and Atlas of the Penicillia*. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 874.
- SANCHIS, V., SALA, N., ONCINS, L., VIÑAS, I., CANELA, R., 1994. Occurrence of fumonisins B1 and B2 in corn-based products from the Spanish market. *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**: 2147-2148.
- SEGARRA, J.; MARÍN, J. P.; ALMACELLAS, J., 1993. Micosis de la cebada en Cataluña durante 1998-90. *Invest. Agr. Prot. Veg.*, **8** (3): 457-467.
- SMITH, I. M.; DUNEZ, J.; LELLIOT, R. A.; PHILLIPS, D. H., 1992. *Manual de Enfermedades de las plantas*. Mundi-Prensa, 671.
- SUTTON, D. A.; FOTHERGILL, A. W.; RINALDI, M. G., 1998. *Guide to Clinically Significant Fungi*. Williams & Wilkins Eds., 471.
- TELLO, J. C., 1990. Especificidad parasitaria en el género *Fusarium*. *Phytoma España*, **20**: 47-51.
- URQUIJO, P.; SARDIÑA, J.R. & SANTAOLALLA, G., 1971. *Patología Vegetal Agrícola. Enfermedades de las Plantas*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 755.
- VARGA, J., RIGÓ, K., TÉREN, J., MESTERHAZY, A., 2001. Recent advances in ochratoxin research. *Cereal Research Communications*, **29**, 1-2: 85-100.
- VON ARX, J. A., 1981. *The Genera of fungi sporulating in pure culture*. J. Cramer, 424.
- WATANABE, T., 1994. *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi*. Lewis Publishers, USA, 411.

(Recepción: 30 mayo 2005)

(Aceptación: 8 noviembre 2005)