





Detección de *Aspergillus fumigatus* en *Hordeum vulgare* comercializado en Morelia, Mich, México con potencial para sintetizar ocratoxina A

Detection of *Aspergillus fumigatus* in *Hordeum vulgare* marketed at Morelia, Mich, México with potential to synthesize ochratoxin A

Márquez-Benavides Liliana , Saucedo-Martínez Blanca Celeste, Sánchez-Yáñez Juan Manuel 

Datos del Artículo

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
Instituto de Investigaciones Químico Biológicas.
Laboratorio de Microbiología Ambiental.
Morelia, Michoacán, México.

***Dirección de contacto:**

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
Instituto de Investigaciones Químico Biológicas.
Laboratorio de Microbiología Ambiental.
Av. Francisco J Mujica S/N.
Col Felicitas del Río, CP 58.000 Morelia.
Michoacán, México.
Tel: +0052, 443322 Ext 4240.

Juan Manuel Sánchez-Yáñez

E-mail address :syanez@umich.mx

Palabras clave:

Suelo,
agricultura,
micobiota,
cereal,
micotoxinas,
almacenamiento,
comercialización,
salud pública.

J. Selva Andina Res. Soc.
2022; 13(1):16-22.

ID del artículo: 153/JSARS/2021

Historial del artículo.

Recibido agosto 2021.
Devuelto noviembre 2021.
Aceptado diciembre 2021.
Disponible en línea, febrero 2022.

Editado por:
Selva Andina
Research Society

Keywords:

Soil,
agriculture,
mycobiota,
cereal,
mycotoxins,
storage,
marketing,
public health.

Resumen

Los granos de *Hordeum vulgare* o *Hv* (cebada) comercializados en la ciudad de Morelia, Michoacán, México como alimentos o bebida (cerveza artesanal) de humanos y animales, pueden contaminarse con propágulos de *Aspergillus* cuando *Hv* se cultiva mediante el sistema agrícola intensivo, basado en la aplicación de fertilizantes químicos y plaguicidas. Los granos de *Hv* transportados, almacenados y comercializados en condiciones inadecuadas en Morelia, permiten el crecimiento de géneros y especies de *Aspergillus* que potencialmente sintetizan micotoxinas como la ocratoxina A. Los objetivos de esta investigación fueron i) analizar la densidad de *Aspergillus* sp en granos de *Hv*, comercializado en Morelia, Mich, México, ii) Demostrar la capacidad potencial de *Aspergillus* aislados de *Hv* en agar dextrosa Sabouraud (ADS) para sintetizar ocratoxina A. Por lo cual, granos de *Hv* colectados en Morelia, Mich, se usaron para determinar la densidad y diversidad especies de *Aspergillus*. Como la capacidad potencial de la principal especie encontrada: *A. fumigatus* en ADS para la síntesis de ocratoxina A. Todos los datos experimentales se analizaron por ANOVA/Tukey. Los resultados indican un relativo alto número de propágulos de *A. fumigatus* que contaminan los granos de *Hv* comercializados en Morelia, donde el 67 % de los aislamientos de *A. fumigatus* mostraron potencial para sintetizar ocratoxina A en ADS, dado que la composición química del ADS suplió la demanda nutricional de *A. fumigatus*. Se concluye que existe un evidente riesgo para los humanos y animales que consumen cebada contaminada por *A. fumigatus* que potencialmente generan ocratoxina A, por lo que se requiere atención sanitaria en el manejo y comercialización de *Hv* en la ciudad de Morelia.

2022. *Journal of the Selva Andina Research Society*[®]. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

The grains of *Hordeum vulgare* or *Hv* (barley) marketed in the city of Morelia, Michoacán, Mexico as food or beverage (craft beer) for humans and animals, can be contaminated with propagules of *Aspergillus*. When *Hv* is grown through an intensive agricultural system, based on the application of chemical fertilizers and pesticides. The *Hv* grains transported, stored and marketed under inappropriate conditions in Morelia, allow the growth of *Aspergillus* genera and species that potentially synthesize mycotoxins such as ochratoxin A. The objectives of this research were i) to analyze the density of *Aspergillus* in grains of *Hv*, commercialized in Morelia, Mich, Mexico, ii) Demonstrate the potential capacity of *A. fumigatus* isolated from *Hv* in Sabouraud dextrose agar (SDA) to synthesize ochratoxin A. Therefore, *Hv* grains collected in Morelia, Mich was used to determine the density and diversity of *Aspergillus* species. As the potential capacity of the main species isolated: *A. fumigatus* in SDA for the synthesis of ochratoxin A was analyzed without no problem since chemical composition of SDA was enough for nutritional demand for *A. fumigatus*. All experimental data were analyzed by ANOVA/Tukey. The results indicate a relatively high number of propagules of *A. fumigatus* that contaminate the grains of *Hv* commercialized in Morelia, where 67 % of the isolates of *A. fumigatus* showed the potential to synthesize ochratoxin A in SDA. It is concluded that there is an evident risk for humans and animals that consume barley (*Hv*) contaminated by *A. fumigatus* that potentially generate ochratoxin A, for which health care is required in the handling and commercialization of *Hv*, in Morelia City.

2022. *Journal of the Selva Andina Research Society*[®]. Bolivia. All rights reserved.



Introducción

En México, el cereal *Hordeum vulgare* o *Hv* (cebada) es de los más consumidos por humanos y animales¹, se cultiva mediante un sistema agrícola de producción intensiva con aplicación de plaguicidas y fertilizantes químicos², que en el suelo inducen la proliferación de propágulos de hongos mitosporicos, lo que provoca que los granos de *Hv* se contaminen por géneros y especies fúngicas de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, con capacidad genética de sintetizar aflatoxinas (micotoxinas): que son metabolitos secundarios, generados cuando las condiciones ambientales de transporte, almacenamiento y/o de comercialización, tales como la humedad cuando supera el 50 % y la temperatura tiene intervalos de 20-33 °C o mayores³ las que permiten posteriormente el crecimiento de estos géneros fúngicos, que sintetizan una amplia diversidad de micotoxinas del tipo: fumonisin, tricotecenos, zearalenona y la ocratoxina A (OTA) en los granos⁴, estos hongos y la síntesis de OTA pueden ser detectadas en medios de cultivo artificiales como el agar dextrosa Sabouraud (ADS). Este hecho es importante, pues los granos de *Hv* son utilizados en la alimentación de humanos y animales⁵, en específico cuando se comercializan en zonas urbanas como la ciudad de Morelia, Mich, México. Las micotoxinas producidas por hongos en los granos de *Hv* son un riesgo de salud pública y animal ya que, al ingresar por la vía oral en función de la dosis consumida, pueden causar desde una intoxicación aguda hasta crónica, e incluso ciertos tipos de cáncer y/o la muerte. Por lo anterior los objetivos de esta investigación fueron en: i) analizar la densidad de propágulos de *Aspergillus fumigatus* de granos de *H. vulgare* (*Hv*) comercializados en la ciudad de Morelia, Michoacán, México ii) demostrar la capacidad potencial de *A. fumigatus* en la generación de ocratoxina A en ADS.

Materiales y métodos

La cebada (*Hv*) así como el *Humulus lupulus* (lúpulo) o *Hl* para la cereza artesana se colectaron de almacenes de granos de Morelia, Mich, México. Las zonas se seleccionaron en las direcciones cardinales convencionales: norte (N), este (E), oeste (O), sur (S) y centro (C), cada muestra de 1 kg se etiquetó como N-*Hv*, E-*Hv*, O-*Hv*, S-*Hv* y C-*Hv*. Los granos se transportaron al laboratorio a 12 °C en bolsas de plástico estériles. El conteo y aislamiento de *Aspergillus*, se realizó por método de cuenta viable en placa según Pitt & Hocking⁴. Para ello, se suspendió 1 g de granos de *Hv* o de *Hl* en 9.0 mL de solución salina (NaCl) al 0.85 %, plus 0.01 g de detergente comercial la Corona^{MR} ajustado a pH a 6.5, cada tubo se agito/30 min en un Vortex, después la solución salina plus detergente con los granos de *Hv* o *Hl* se diluyó hasta 10^{-7} , cada dilución se sembró en ADS con la siguiente composición química (g/L): 25.0 de glucosa, 10.0 de peptona, 1.0 de extracto de levadura, 18.0 agar ajustado a pH de 5.6 para inhibir el crecimiento bacteriano de los granos. Las cajas ADS se incubaron a 28-30 °C/3-5 días, la técnica de cuenta viable en placa, se realizó por triplicado y el conteo de las colonias de *Aspergillus* se expresó por el promedio de unidades formadoras de propágulos por gramo de *Hv* o *Hl* (UFP/g de grano). Las colonias representativas de *Aspergillus* de cada placa se aislaron y conservaron en suelo estéril a 4 °C, para la determinación de la capacidad potencial de síntesis de OTA en ADS bajo la presunción de que la composición química sería suficiente no solo para el aislamiento de los hongos sino también para la demostración de la síntesis de la OTA como evidencia de que estos hongos tienen la capacidad genética de expresar esta propiedad en el ADS, y a la vez permite la identificación de las

especies de acuerdo a características reproductivas del género y PCR relacionadas con *A. fumigatus*⁶. La síntesis de OTA por *A. fumigatus* se detectó cualitativamente por una lámpara UV en el ADS, lo que se usó para la extracción de esta toxina a partir de 2.5 g del ADS del sitio de liberación de la OTA por *A. fumigatus*. Esta OTA se extrajo por el método Soxhlet con éter dietílico como disolvente a 37 °C, entonces la toxina separada se colocó en tubos Eppendorf, se cubrió con papel de aluminio y conservo a 0 °C en congelador, mientras para determinar la concentración de la OTA, se prepararon soluciones estándar de

OTA (> 98 %, Sigma-Aldrich) en etanol para obtener la curva de calibración en un espectrofotómetro (VE-5000), a 350 nm^{3,8,10}. Los datos experimentales se analizaron mediante ANOVA/Tukey $\alpha = 0.05$ y el software Stat Graphics Centurion⁷.

Resultados

El principal género y especie de hongo detectado en los granos de *Hv* o *Hl* de acuerdo con las estructuras reproductivas y genéticas, fue: *A. fumigatus*, con potencial de síntesis de OTA en ADS.

Tabla 1 Densidad de propágulos de *Aspergillus fumigatus* detectados en granos de *Hordeum vulgare* o *Humulus lupulus* comercializados en Morelia, Michoacán, México y la concentración de ocratoxina A sintetizada en agar dextrosa Sabouraud

Comercializadoras de granos ¹ según los puntos cardinales de Morelia, Mich	Por ciento (%) de <i>A. fumigatus</i>	Densidad de los propágulos de <i>A. fumigatus</i> x 10 ⁶ UFP/g de <i>H. vulgare</i>	Concentración de OTA (ppm)/aislados de <i>H. vulgare</i> (izquierda) y <i>Humulus lupulus</i> (última derecha) por <i>A. fumigatus</i> en agar dextrosa Sabouraud	
Control absoluto (agua destilada estéril)	0 ^{c*}	0 ^d	0 ^d	0 ^{d**}
Norte	5 ^b	49 ^b	21 ^b	21 ^b
Este	18 ^b	156 ^a	71 ^a	51 ^a
Sur	45 ^a	205 ^a	93 ^a	45 ^{ab}
Centro	10 ^b	135 ^a	18 ^c	18 ^b
Oeste	22 ^b	167 ^a	47 ^a	94 ^a

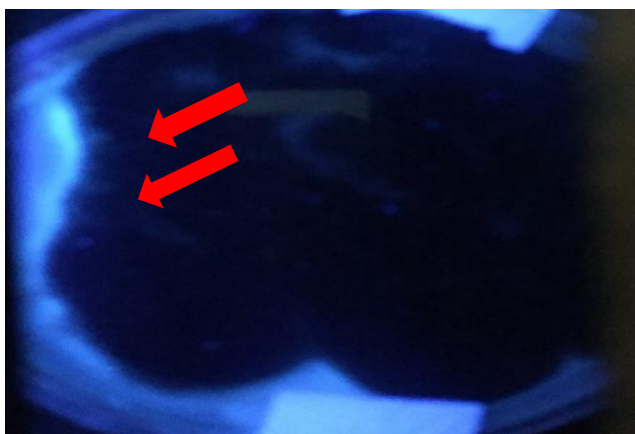
¹Equivalente a 1 kg de granos de *H. vulgare* *valores con letras distintas indican diferencia estadística de acuerdo con ANOVA/Tukey (P<0.05)

En la Tabla 1 se muestra que independientemente de la zona de venta de *Hv* en los 5 puntos cardinales: norte (N), sur (S), este (E), oeste (O), y centro (C) de la ciudad de Morelia, Mich, México. Todos los granos de *Hv* y *Hl* analizados estaban contaminados por propágulos de *A. fumigatus*, el porcentaje detectado en los granos de *Hv* con la mayor densidad de propágulos fue el comercio del S-*Hv* con 205 UFP/g de cebada, la menor en los granos en un comercio del norte (N-*Hv*) con 49 UFP/g de cebada. En esta Tabla también se indica la concentración de la OTA sintetizada por *A. fumigatus* en el ADS, en donde la concentración de 93 ppm fue el valor más alto que se detectó en un aislado de *A. fumigatus* proveniente de granos

de un comercio del sur (S-*Hv*) de la ciudad de Morelia, este valor de concentración tuvo una correlación directa con la mayor densidad de propágulos de *A. fumigatus* en los granos de *Hv*, mientras que la menor concentración fue de 21 ppm en los granos provenientes del N-*Hv*. No obstante, a pesar de una alta densidad de propágulos de *A. fumigatus* en los granos analizados de la zona centro (C-*Hv*) y del oeste (O-*Hv*) de la ciudad de Morelia, se detectó una baja concentración de OTA por los aislados de *A. fumigatus* cultivados en ADS: con 18 ppm proveniente del centro (C-*Hv*) y relativamente menor en *A. fumigatus* recuperados del oeste (O-*Hv*) con 47 ppm.

En la Figura 1 se muestra la fluorescencia a la OTA, liberada por un aislado de *A. fumigatus* crecido en el ADS, que se recuperó de los granos de *Hv* y *Hl* comercializados en la ciudad de Morelia, crecido en ADS, un medio de cultivo que contiene la composición química suficiente para que cualquier hongo que genéticamente sintetice la OTA sin problema para que sea posible no solo establecer que la formo sino también lo haga en una concentración suficiente para cuantificarla^{8,10}.

Figure 1 Detección por luz ultravioleta (señalado por las flechas rojas) de la presencia de la ocratoxina A en agar dextrosa Sabouraud por *Aspergillus fumigatus* aislado de granos de *Hordeum vulgare* comercializados en Morelia, Michoacán, México



Con base en una de las principales propiedades químicas de la OTA, que se observó en el ADS donde creció *A. fumigatus*, mediante la lámpara de luz UV indicado por las flechas rojas, de ahí se extrajo y purifico la OTA, para establecer que independiente del origen de los granos comercializados en los diferentes sitios de la ciudad de Morelia, Mich, cada aislado de *A. fumigatus* mostro la capacidad potencial de síntesis de la OTA^{10,11} en el ADS. A pesar de no encontrar una relación directa con la densidad de los propágulos de *A. fumigatus* recuperados en cada sitio de comercialización de la *Hv* y *Hl* en la ciudad de Morelia.

Discusión

Las diferencias en la densidad de propágulos de *A. fumigatus* en los granos de *Hv* de los distintos sitios de comercialización de la ciudad de Morelia, Mich, sugieren que tales diferencias tuvieron relación con las condiciones ambientales de manejo en los sitios de siembra y cosecha así como: la humedad, la temperatura estación del año de cosecha, del transporte de la *Hv* desde el sitio de cosecha a la ciudad, del almacenamiento y en especial de la comercialización del grano de *Hv* en la ciudad de Morelia, Mich^{1,7,8,11}. Condiciones ambientales que favorecieron la contaminación y existencia de géneros y especies de hongos que sintetizan la OTA, como: *Penicillium verrucosum*¹². Así como la existencia de especies de *Aspergillus* diferentes *A. fumigatus* en ADS como: *A. ochraceus*, *A. alliaceus*, *A. carbonarius*, *A. niger* y *A. melleus*¹⁰⁻¹³. La literatura reporta la contaminación de productos agrícolas en almacén o venta por hongos que tienen la capacidad de sintetizar OTA en una amplia variedad como: café, jugo de uva, especias, vinos, cerveza, así como la leche y derivados origen animal¹⁴⁻¹⁸. En ese sentido la diferencia en la capacidad de síntesis de la OTA en el ADS de cada aislado de *A. fumigatus* recuperados de los diferentes sitios de comercialización en la ciudad de Morelia, Mich, probablemente se deba al origen geográfico de cada *A. fumigatus*^{12,13,16}. En contraste con otras investigaciones que reportan la existencia de otros géneros y especies de hongos que sintetizan OTA en medio de cultivo artificial similar al ADS, con valores relativamente bajos y altos desde 0.01 hasta 234 ppm^{14,18-20}. Esas diferencias en la concentración de la producción de OTA en ADS por hongos que contaminan granos como los de *Hv*, o en *Hl* desde la zona de cultivo agrícola hasta la comercialización en la ciudad^{21,23,24}. Apoyan que sea posible la variabilidad genética en

los aislados de *A. fumigatus* provenientes de las distintas regiones de producción de *Hv* dentro y fuera el estado de Michoacán, México, que tienen climas y niveles de humedad suficientes que permiten una alta densidad de propágulos de hongos que sintetizan OTA²¹⁻²³ debido al sistema de producción intensivo con elevadas dosis de fertilizantes químicos y de plaguicidas²⁴, los cuales inducen el crecimiento de géneros y especies de hongos que genéticamente tienen capacidad de sintetizar micotoxinas del tipo de la OTA^{25,26}. Al respecto se reporta que aproximadamente el 25 % de los cereales que se distribuyen y consumen en el mundo están contaminados por propágulos de hongos que sintetizan diversas clases de micotoxinas^{21,22}. En consecuencia, cuando granos de cereales del tipo de *Hv*, o en *Hl* se contaminan por propágulos de hongos con el potencial genético de sintetizar micotoxinas resultado de las condiciones inadecuadas de manejo de esos granos²⁶, que luego se emplean en la elaboración de alimentos y bebidas como la cerveza artesanal que son consumidos por humanos²⁴. El consumo de estos alimentos que contiene micotoxinas dependientes de la dosis de ingerida, provoca diversos daños en la salud humana o animal que ser desde la intoxicación leve hasta la muerte²³⁻²⁵. En específico la OTA por *A. fumigatus* puede ser carcinogénica (teratogénica), hepatotóxica, nefrotóxica e inmunosupresora²⁶. Por lo anterior se concluye que los propágulos de *A. fumigatus* detectados los granos de *Hv*, y del *Hl* que se comercializan en la ciudad de Morelia, Mich, requieren la vigilancia de las autoridades correspondientes, para que el sistema de producción agrícola de este cereal, del tiempo de cosecha, del transporte y de la comercialización eviten riesgos para la salud humana y animal causados por el consumo de OTA generados por los hongos que contaminan este grano²⁵.

Fuente de financiamiento

A la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH por el proyecto 2.7 (2022).

Conflictos de intereses

Los autores de este artículo, declaramos que no existe ningún conflicto de interés en la planificación, ejecución y redacción de la investigación realizada, como tampoco con aquellas personas e instituciones que la financiaron.

Agradecimientos

A BIONUTRA, S.A de CV, Maravatío, Michoacán, México.

Consideraciones éticas

La aprobación de la investigación por el Comité de Ética de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México siguió las pautas establecidas por ese comité.

Limitaciones en la investigación

Los autores declaran que no hubo limitaciones en la investigación.

Aporte de los autores en el artículo

Blanca Celeste Saucedo-Martínez, realización de los experimentos completos. *Liliana Márquez-Benavides*, análisis estadístico y bibliografía. *Juan Manuel*

Sánchez-Yáñez, planeación y administrador del financiamiento de la investigación, supervisión de resultados y discusión, revisión final del documento para publicación.

Literatura citada

1. Bottalico A, Perrone G. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *Eur J Plant Pathol* 2002;108:611-24. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1020635214971>
2. Buerstmayr H, Legzdina L, Steiner B, Lemmens M. Variation for resistance to *Fusarium* head blight in spring barley. *Euphytica* 2004;137:279-90. DOI: <https://doi.org/10.1023/B:EUPH.0000040440.99352.b9>
3. Castañares E, Stenglein SA (dir), García ML (dir). Variabilidad genética de *Fusarium graminearum*, potencial producción de toxinas y sus implicancias en la calidad de los granos de cebada [tesis doctoral]. [Buenos Aires]: Universidad Nacional de La Plata; 2016 [citado 26 de octubre de 2021]. Recuperado a partir de: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/52096>
4. Haubruge E, Chasseur C, Suetens C, Mathieu F, Begaux F, Malaisse F. Mycotoxins in stored barley (*Hordeum vulgare*) in Tibet autonomous region (people's Republic of China). *Mt Res Dev* 2003;23(3);284-7. DOI: [https://doi.org/10.1659/0276-4741\(2003\)023\[0284:MISBHV\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1659/0276-4741(2003)023[0284:MISBHV]2.0.CO;2)
5. Dinolfo MI, Stenglein SA. *Fusarium poae* and mycotoxins: potential risk for consumers. *Bol Soc Argent Bot* 2014;49(1):5-20.
6. Béjar V, Villanueva F, León SR, Guevara-Granados JM, Uribe A, Vergaray G, et al. Identificación molecular de *Aspergillus fumigatus* aislados de pacientes con aspergilosis invasiva. *Rev Perú Med Exp Salud Pública* 2019;36(1):81-6. DOI: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2019.361.3403>
7. Garza-Hernández JM, Marroquín-Agreda FJ, Lerma-Molina JN, Ley de-Coss A, Toledo-Toledo E, Martínez-Solís M, et al. Biofertilizante micorrízico y fertilizante mineral en el crecimiento de *Elaeis guineensis* Jacq. en vivero. *Agro Productividad* 2019;9(2):26-32.
8. Ruscito A, Smith M, Goudreau DN, DeRosa MC. Current Status and Future Prospects for Aptamer-Based Mycotoxin Detection. *J AOAC Int* 2016; 99(4):865-77. DOI: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.16-0114>
9. Abid M, Chohan S, Akram S, Shah RM, Hussain S, Binyameen M, et al. Fungal diversity and frequency carried by housefly (*Musca domestica* L.) and their relation with stored grains in rural areas of Pakistan. *J Food Saf* 2018;38(5):e12508. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfs.12508>
10. Dalcero A, Magnoli C, Hallak C, Chiacchiera SM, Palacio G, Rosa CA. Detection of ochratoxin A in animal feeds and capacity to produce this mycotoxin by *Aspergillus* section Nigri in Argentina. *Food Addit Contam* 2002;19(11):1065-72. DOI: <https://doi.org/10.1080/02652030210151895>
11. Perusia OR, Rodríguez A. Micotoxicosis. *Rev Investig Vet Perú* 2001;12(2):87-116. DOI: <https://doi.org/10.15381/rivep.v12i2.1637>
12. Abarca M^aL, Bragulat M^aR, Castellá G, Accensi F, Cabañes FJ. Hongos productores de micotoxinas emergentes. *Rev Iberoam Micol* 2000;17:S63-8.
13. Bayman P, Baker JL, Doster MA, Michailides TJ, Mahoney NE. Ochratoxin production by the *Aspergillus ochraceus* group and *Aspergillus alliaceus*. *Appl Environ Microbiol* 2002;68(5): 2326-9. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.68.5.2326-2329.2002>

14. Bau M, Bragulat MR, Abarca ML, Minguez S, Cabañes FJ. Ochratoxigenic species from Spanish wine grapes. *Int J Food Microbiol* 2005;98(2): 125-30. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.015>
15. Da RR, Palacios V, Combina M, Fraga ME, De OR, Magnoli CE, et al Potential ochratoxin A producers from wine grapes in Argentina and Brazil. *Food Addit Contam* 2002;19(4):408-14. DOI: <https://doi.org/10.1080/02652030110092748>
16. Pfliegler WP, Pócsi I, Györi Z, Pusztahelyi T. The Aspergilli and their mycotoxins: metabolic interactions with plants and the soil biota. *Front Microbiol* 2020;10:2921. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02921>
17. Taniwaki MH, Pitt JI, Teixeira AA, Iamanaka BT. The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. *Int J Food Microbiol* 2003;82(2):173-9. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(02\)00310-0](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(02)00310-0)
18. Trucksess MW, Giler J, Young K, White KD, Page SW. Determination and Survey of Ochratoxin A in wheat, barley, and coffee-1997. *J AOAC Int* 1999;82(1):85-9. DOI: <https://doi.org/10.1093/jaoac/82.1.85>
19. Zinedine A, Brera C, Elakhdari S, Catano C, Debegnach F, Angelini S, et al. Natural occurrence of mycotoxins in cereals and spices commercialized in Morocco. *Food Control* 2006;17(11):868-74. DOI: <https://doi.org/10.016/j.foodcont.2005.06.001>
20. Lahouar A, Jedidi I, Sanchis V, Saïd S. Aflatoxin B1, ochratoxin A and zearalenone in *Sorghum grains* marketed in Tunisia. *Food Addit Contam Part B Surveill* 2018;11(2):103-10. DOI: <https://doi.org/10.1080/19393210.2018.1433239>
21. Bragulat MR, Abarca ML, Cabañes FJ. An easy screening method for fungi producing ochratoxin A in pure culture. *Int J Food Microbiol* 2001;71(2-3):139-44. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(01\)00581-5](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00581-5)
22. Romero SM, Comerio RM, Larumbe G, Ritieni A, Vaamonde G, Fernández Pinto V. Toxigenic fungi isolated from dried vine fruits in Argentina. *Int J Food Microbiol* 2005;104(1):43-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.04.001>
23. Devegowda G, Raju MVLN, Swamy HVLN. Mycotoxins: Novel solution for their counteraction. *Feedstuffs* 1998;70:12-5.
24. Majeed S, Iqbal M, Asi MR, Iqbal SZ. Aflatoxins and ochratoxin A contamination in rice, corn and corn products from Punjab, Pakistan. *Journal of Cereal Science* 2013;58(3):446-50. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.09.007>
25. Frisvad JC, Larsen TO, de Vries R, Meijer M, Houbraken J, Cabañes FJ, et al. Secondary metabolite profiling, growth profiles and other tools for species recognition and important *Aspergillus* mycotoxins. *Stud. Mycol* 2007;59:31-7. DOI: <https://doi.org/10.3114/sim.2007.59.04>
26. Bolet Astoviza M, Socarrás Suárez M. Micotoxinas y cáncer. *Rev Cubana Invest Bioméd* 2005; 24(1):54-9.

Nota del Editor:

Journal of the Selva Andina Research Society (JSARS) se mantiene neutral con respecto a los reclamos jurisdiccionales publicados en mapas y afiliaciones institucionales.