

Production in vitro de fumonisines et de fusarines par des souches européennes de *Fusarium moniliforme*

Sylvie Rapior, J. David Miller, Marc E. Savard, John W. Apsimon

► **To cite this version:**

Sylvie Rapior, J. David Miller, Marc E. Savard, John W. Apsimon. Production in vitro de fumonisines et de fusarines par des souches européennes de *Fusarium moniliforme*. Microbiologie – Aliments - Nutrition, I.E.E.N.A., 1993, 11, pp.327-333. hal-02240052

HAL Id: hal-02240052

<https://hal.umontpellier.fr/hal-02240052>

Submitted on 1 Aug 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**PRODUCTION *IN VITRO* DE FUMONISINES ET DE FUSARINES
PAR DES SOUCHES EUROPEENNES
DE *FUSARIUM MONILIFORME***

Sylvie RAPIOR (*), J.D. MILLER (**), M.E. SAVARD (**), J.W. APSIMON (***)

**FUMONISINS AND FUSARINS PRODUCTION *IN VITRO* BY EUROPEAN
STRAINS OF *FUSARIUM MONILIFORME***

Summary

An efficient liquid medium culture method for the screening of *Fusarium moniliforme* for the production of fusarins and fumonisins was used to test strains from Europe. From the 27 corn samples analysed, 16 strains of *F. moniliforme* were isolated. Of these, 13 produced measurable amounts of fusarins A, C and F (0.08 to 26.2 mg/l) in liquid culture while all 16 strains produced fumonisins B₁ and B₂ (20.6 to 483.4 mg/l). The productions of fusarins and fumonisins were not correlated. This is the first report of fusarins and fumonisins production in liquid medium culture by *F. moniliforme* from Europe.

KEY-WORDS: *Fusarium moniliforme* - Fumonisins - Fusarins - Corn.

INTRODUCTION

Dans la mycoflore associée au maïs (*Zea mays* L.) en épis et au maïs stocké sous forme de grain sec ou sous forme de grain humide ensilé, les micromycètes du genre *Fusarium* sont représentés par de nombreuses espèces pathogènes des céréales parmi lesquelles *Fusarium graminearum* Schwabe, *F. sporotrichioides* Sherbakoff et *F. moniliforme* Sheldon sont les trois espèces toxigènes les plus importantes [4, 6, 19, 29, 30]. L'étude des myco-toxines produites par *F. sporotrichioides* et *F. graminearum* s'est essentiellement orientée vers les trichothécènes (toxine T-2, désoxynivalénol, nivalénol...) et la zéaralénone [2, 3, 7, 16, 18, 21, 40], responsables de perturbations de la fonction de reproduction, de syndromes entéro-hémorragiques et de l'"aleucie toxique alimentaire" [17, 35, 39].

Les fusarines et les fumonisines isolées à partir de *F. moniliforme* [11, 13] regroupent des composés aux activités biologiques diverses. La plus étudiée des fusarines, la fusarine C, est reconnue comme étant un agent mutagénique et un inhibiteur des macrophages [10, 12]. Les fumonisines B₁ et B₂ sont impliquées dans l'étiologie du cancer de l'oesophage chez l'homme, du cancer du foie chez le rat, de l'oedème pulmonaire chez le porc et de la leucoencéphalomalacie des équidés [14, 15, 22, 38].

(*) Laboratoire de Botanique, Phytochimie et Mycologie - Faculté de Pharmacie - 34060 Montpellier (France).

(**) Centre de Recherches phytotechniques - Edifice K.W. Neatby - Ferme expérimentale centrale - Agriculture Canada - Ottawa, Ontario - Canada K1A 0C6 - Publication No. 1469.

(***) Université Carleton - Ottawa, Ontario (Canada).

328 De nombreuses souches de *F. moniliforme* isolées à partir de maïs provenant des continents américain, africain, asiatique et de l'Océanie produisent des fusarines [8, 9, 11] et des fumonisines [23, 25, 26, 36, 37]. La production de fumonisines B₁ et B₂ par des souches françaises, italiennes et polonaises de *F. moniliforme* a été récemment rapportée par culture sur maïs autoclavé [5, 20, 41]. Aucune donnée n'est connue sur la production de fusarines par des souches européennes de *F. moniliforme*. L'objectif de notre étude a été de déterminer la production de fusarines et de fumonisines par des souches de *F. moniliforme*, isolées de maïs français et espagnols, cultivées en milieu liquide.

MATERIEL ET METHODES

Echantillonnage - Les 5 échantillons de maïs en épis et les 22 échantillons de maïs-grains testés provenaient de productions françaises et espagnoles de l'année 1991. Tous les lots de maïs étaient de qualité marchande et destinés soit à la consommation humaine, soit à la fabrication d'aliments pour animaux.

Milieux d'isolement et d'identification - Après homogénéisation de l'échantillon, 30 grains entiers ont été lavés successivement, pendant 5 min., par une solution de NaOCl à 1%, l'éthanol à 70% et de l'eau stérile. Les grains de maïs ont été ensuite déposés aseptiquement sur 10 boîtes de Petri renfermant 15 ml de milieu de culture sélectif (PCNB, g/l) [24]: KH₂PO₄, 1,0; MgSO₄.7H₂O, 0,5; pentachloronitrobenzène, 1,0; streptomycine, 0,1; tétracycline, 0,05; peptone, 15,0; agar, 20,0. Après incubation de 4 à 7 jours à 25°C, les thalles développés autour des grains de maïs ont été transférés sur milieu gélosé à 2% de malt (incubation: 7 à 10 jours, 20°C). Des premières sub-cultures sur milieu gélosé (0,7% d'agar - 24 h à 20°C) ont servi à obtenir des spores en phase germinative, prélevées sous microscope, pour développer des cultures d'une part sur milieu d'identification des *Fusarium* (SNA, g/l) [28]: KH₂PO₄, 1,0; KNO₃, 1,0; MgSO₄.7H₂O, 0,5; KCl, 0,5; glucose, 0,2; sucrose, 0,2; agar, 20,0 (incubation: 3 semaines, 25°C), d'autre part sur milieu gélosé à 2% de malt (incubation: 7 à 10 jours, 25°C).

Les isolats ont été identifiés selon Nelson *et al.* [27]. Ceux appartenant à l'espèce *F. moniliforme* provenaient d'échantillons de maïs destinés à l'alimentation animale. L'origine géographique de ces échantillons est portée dans le Tab. II.

Production de toxines - Des cultures sur milieu gélosé à 2% de malt ont été dispersées dans 27 ml d'eau stérile; 2,5 ml de la suspension ont été ensemencés dans une fiole d'Erlenmeyer de 250 ml contenant 50 ml du milieu suivant (g/l): NH₄Cl, 3,0; FeSO₄.7H₂O, 2,0; KH₂PO₄, 2,0; peptone, 2,0; extrait de levure, 2,0; extrait de malt, 2,0; glucose, 20,0. Les cultures développées après 48 heures d'incubation à l'obscurité, à 28°C, sous agitation (3,81 cm d'amplitude; 220 rev./min), ont été utilisées comme suit: - pour la production de fusarines, 2,5 ml ont été ensemencés dans des fioles d'Erlenmeyer contenant 50 ml du milieu suivant (g/l): (NH₄)₂HPO₄, 1,0; KH₂PO₄, 3,0; MgSO₄.7H₂O, 0,2; NaCl, 5,0; sucrose, 40,0; et glycérol, 10,0 (incubation, sous agitation, à l'obscurité pendant 10 jours dans les conditions précédemment décrites [33]), - pour la production de fumonisines, la culture a été centrifugée à 10 000 g pendant 10 min. Après élimination de 50% du surnageant, le culot a été remis en suspension; 3,5 ml de cette suspension ont été ensemencés dans trois fioles d'Erlenmeyer de 250 ml contenant 50 ml du milieu de production décrit ci-dessus [1]. L'incubation a été poursuivie pendant 14 jours à 28°C sur un agitateur rotatif [23].

Détection et dosage des fusarines - La méthodologie appliquée a été décrite par Savard et Miller [33]. Brièvement résumée, elle était la suivante: - le filtrat de 50 ml de culture sur papier Whatman n° 41 était extrait, 2 fois successivement, par 40 ml d'acétate d'éthyle - après déshydratation (Na_2SO_4), filtration, concentration, l'extrait était chromatographié sur colonne Lichrosorb 5 μm RP-18 (250 x 4,6 mm) avec comme éluant le mélange $\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}$ (35:65, v:v) - analyse spectrophotométrique à 225, 280 et 365 nm (chromatographe Varian 5000 couplé à un détecteur UV-Vis. "BioRad Biodimension") en utilisant un standard de fusarine C à 365 nm. Le seuil de détection était de 0,01 mg/l.

Détection et dosage des fumonisines - La méthode utilisée était celle décrite par Miller et coll. [23]. 1 ml de filtrat de culture était déposé sur une colonne Bond Elut Certify II LRC (200 mg, Varian) préalablement conditionnée par le méthanol (6 ml) et l'eau (6 ml). La colonne était ensuite lavée par l'eau (6 ml) et le méthanol (6 ml) et les fumonisines étaient éluées par une solution à 0,1% d'acide trifluoroacétique dans le méthanol (2,5 ml).

Les fumonisines B_1 et B_2 ont été dosées selon une variation de la méthode analytique de Scott et Lawrence [34]. La fraction méthanolique était évaporée à sec et reprise par 1 ml de méthanol; 20 μl étaient transférés dans un flacon de 2 ml et séchés sous azote. Le résidu était dissous dans 100 μl d'une solution tampon de borate de sodium à 0,05 M (pH 8,3 ajusté par HCl 1 N) et dans 100 μl d'une solution préparée extemporanément de 4-fluoro-7-nitrobenzofurazane (Molecular Probe) à 22 mM dans l'éthanol à 95%. Après dérivation à 70°C pendant 70 sec., la solution était refroidie et le volume porté à 500 μl par un mélange (1:1) des phases mobiles HPLC A ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 0,05 M, 1:1, pH 6,3 ajusté par NaOH 2 M) et B ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 8:2).

L'analyse des fumonisines fut réalisée sur un chromatographe Varian 5500 couplé à un intégrateur Varian Vista CDS-401, par injection de 20 μl de l'échantillon dérivé (correspondant à 8 ng pour les standards FB_1 et FB_2) sur une colonne Lichrosorb 5 μm RP-18 250 x 4,6 mm. Un gradient d'éluion de 0 à 100% de B en 11 min. (1 ml/min.) suivi d'un plateau de 2 min. a été utilisé. Les fumonisines B_1 et B_2 dérivées ont été détectées par leur fluorescence à 490 nm après excitation à 450 nm au moyen d'un détecteur Waters model 420-E, et avec un seuil de détection de 0,2 mg/l.

RESULTATS ET DISCUSSION

Sur les 27 échantillons de maïs analysés, des thalles de *Fusarium* sont apparus dans 15 échantillons (Tableau I), 10 n'ont présenté qu'une seule espèce de *Fusarium* alors que les cinq autres contenaient un mélange d'espèces. *F. graminearum* était la seule espèce fongique dans quatre échantillons de maïs, *F. moniliforme* dans cinq et *F. sporotrichioides* dans un seul. Dans les autres échantillons, ces trois espèces étaient regroupées de différentes façons et avec d'autres espèces de *Fusarium*, dont *F. culmorum* dans trois cas.

Les fusarines A, C et F étaient produites *in vitro* en faibles quantités (entre 0,08 mg/l et 26,2 mg/l) par treize des seize isolats de *F. moniliforme* (Tableau II). Aucune fusarine n'a été détectée pour les trois autres isolats (DAOM 194215, DAOM 194216 et DAOM 194218). Les isolats présentant les plus fortes productions de fusarines (DAOM 194225 et DAOM 194226) provenaient de maïs espagnol. Les seize isolats produisaient des fumonisines. Le taux de fumonisines ($B_1 + B_2$) atteignait des valeurs s'échelonnant de 20,6 mg/l à 483,4 mg/l pour lesquelles la fumonisine B_2 représentait de 9,3 à 31,7% de FB_1 . Aucune corrélation n'a été observée entre la proportion de FB_2 et soit le site d'origine des

330 cultures, soit la production de FB₁. Quatorze des isolats de *F. moniliforme* produisaient plus de 100 mg/l de fumonisines (cf. Tabl. II); parmi eux, deux, issus d'échantillons de maïs français (DAOM 194218 et DAOM 194220), en produisaient plus de 400 mg/l. Aucune corrélation n'a été trouvée entre les concentrations de fusarines et les concentrations de fumonisines. L'absence, ou une basse concentration de fusarines, n'était pas nécessairement reliée à une basse ou une haute concentration de fumonisines. Par contre, les productions de fusarines A, C et F d'une part, celles de fumonisines B₁ et B₂ d'autre part, étaient fortement corrélées entre elles.

Tableau I - Regroupement des espèces de *Fusarium* identifiées dans les échantillons de maïs européens contaminés

Echantillon	Espèces
F5	<i>F. graminearum</i>
F7	<i>F. moniliforme</i>
F8	<i>F. moniliforme</i>
F9	<i>F. moniliforme</i>
F11	<i>F. graminearum</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>F. culmorum</i>
F13	<i>F. graminearum</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>F. culmorum</i>
F14	<i>F. graminearum</i>
F15	<i>F. moniliforme</i> , <i>F. culmorum</i>
F16	<i>F. graminearum</i>
F17	<i>F. graminearum</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , autres espèces de <i>Fusarium</i>
F18	<i>F. graminearum</i>
F19	<i>F. sporotrichioides</i>
F21	<i>F. graminearum</i> , autres espèces de <i>Fusarium</i>
F22	<i>F. moniliforme</i>
F23	<i>F. moniliforme</i>

L'utilisation de culture en milieu liquide pour déterminer la production de toxines par les *Fusarium* en général, et de fusarines et de fumonisines par *F. moniliforme* en particulier, présente de nombreux avantages par rapport à la culture sur maïs. En effet, la culture en milieu liquide, méthode relativement simple et très reproductible, permet de réduire considérablement la variabilité des conditions de production et les interférences analytiques conduisant à des résultats faussement négatifs ou faussement positifs rencontrés dans le cas de cultures sur matériel végétal [25, 32].

La production des fumonisines B₁ et B₂ sur maïs par des isolats européens de *F. moniliforme* [5, 20, 41] est comparable à celle décrite pour des isolats de *F. moniliforme* provenant d'autres zones géographiques [25]. De la même façon, la production de fumonisines sur milieu liquide à partir des isolats européens de *F. moniliforme* est comparable à celle obtenue à partir d'isolats asiatiques [23], canadiens et américains (Miller et coll., données non publiées) testés dans les mêmes conditions de culture.

Les données obtenues sur la production des fusarines (A, C et F) sont aussi comparables, bien qu'en général plus basses, avec celles décrites pour un isolat africain, vingt nord-américains et 26 asiatiques de *F. moniliforme* [23, 33, (Miller et coll., données non publiées)].

Le peu de données disponibles en ce moment sur les fumonisines et surtout les fusarines trouvées dans des denrées européennes [31, 41] ou produites par *F. moniliforme* isolé de

Tableau II - Production de fusarines et de fumonisines par des isolats européens de *Fusarium moniliforme* (mg/l)

Origine	Isolat réf. DAOM ^(a)	Fusarines				Fumonisines		
		F	C	A	Total	B ₁	B ₂	Total
France (dpt. Aude)	194211	5,6	7,7	2,7	16,0	55,4	8,67	64,07
	194212	4,6	6,6	1,6	12,8	182	39,4	221,40
	194213	0,52	1,0	0,25	1,77	169	32,7	201,70
	194214	0,12	0,14	<0,01	0,26	113	14,9	127,90
	194215	<0,01	<0,01	<0,01	n.d.	311	33,1	344,10
	194216	<0,01	<0,01	<0,01	n.d.	276	40,7	316,70
France (dpt. Lot)	194217	6,1	9,9	3,4	19,4	120,4	38,2	158,60
	194218	<0,01	<0,01	<0,01	n.d.	436	47,4	483,40
	194219	0,16	0,21	0,07	0,44	311	46,1	357,10
	194220	0,02	0,06	<0,01	0,08	356	55,0	411,00
	194221	0,18	0,20	0,08	0,46	234	23,9	257,90
	194222	0,33	0,67	0,23	1,23	203	18,9	221,90
France (exp. Italie)	194223	2,8	4,8	1,4	9,0	117	18,8	135,80
	194224	3,7	6,3	1,9	11,9	16,6	4,02	20,6
Espagne	194225	7,0	14,9	3,2	25,1	249	68,4	317,40
	194226	7,7	15,2	3,3	26,2	132	33,1	165,10

(a) DAOM est la collection nationale de cultures fongiques du Canada (Centre de Recherches sur les Terres et Ressources Biologiques, Agriculture Canada, Ottawa, Ontario, Canada K1A 0C6).

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos remerciements à G. Montgomery (Agriculture Canada, Ottawa) pour sa précieuse aide technique.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BLACKWELL B.A., MILLER J.D., SAVARD M.E. - Production of carbon-14-labelled fumonisin in liquid culture. *J.A.O.A.C. Int.*, 1993, sous presse.
- [2] BOTTALICO A., LERARIO P., VISCONTI A. - Mycotoxins occurring in *Fusarium*-infected maize ears in the field, in some European countries, in K. NAGUIB, M.M. NAGUIB, D.L. PARK, POHLAND A.E. (eds.), *Proc. int. symp. mycotoxins* (Sept. 6-8, 1981, Cairo, Egypt), 1983, 375-382.
- [3] BOTTALICO A., LOGRIECO A., VISCONTI A. - *Fusarium* species and their mycotoxins in infected corn in Italy. *Mycopathologia*, 1989, 107, 85-92.
- [4] CASSINI R. - *Fusarium* diseases of cereals in Western Europe, in P.E. NELSON, T.A. TOUSSOUN, R.J. COOK (eds.), *Fusarium: diseases, biology and taxonomy*. The Pennsylvania State Univ. Press (University

- [5] CHELKOWSKI J., LEW H. - *Fusarium* species of *Liseola* section - Occurrence in cereals and ability to produce fumonisins. *Microbiol. Alim. Nutr.*, 1992, 10, 49-53.
- [6] COOK R.J. - Disease of grain maize. *ADAS Quarterly Rev.*, 1973, 113-115.
- [7] ESCOULA L. - *Fusarium graminearum* dans les ensilages. Production de zéaralénone. *Ann. Rech. Vét.*, 1979, 10, 615-617.
- [8] FARBER J.M., SANDERS G.W. - Fusarin C production by North American isolates of *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1986, 51, 381-384.
- [9] FARBER J.M., SANDERS G.W. - Production of fusarin C by *Fusarium* spp. *J. Agric. Food Chem.*, 1986, 34, 963-966.
- [10] FARBER J.M., SCOTT P.M. - Fusarin C, in J. CHELKOWSKI (ed.), *Fusarium: mycotoxins, taxonomy and pathogenicity*, Elsevier (Amsterdam), 1989, 41-52.
- [11] GELDERBLOM W.C.A., THIEL P.G., MARASAS W.F.O., VAN DER MERWE J.K. - Natural occurrence of fusarin C, a mutagen produced by *Fusarium moniliforme*, in corn. *J. Agric. Food Chem.*, 1984, 32, 1064-1067.
- [12] GELDERBLOM W.C.A., THIEL P.G., JASKIEWICZ K., MARASAS W.F.O. - Investigations on the carcinogenicity of fusarin C, a mutagenic metabolite of *Fusarium moniliforme*. *Carcinogenesis*, 1986, 11, 1899-1901.
- [13] GELDERBLOM W.C.A., JASKIEWICZ K., MARASAS W.F.O., THIEL P.G., HORAK R.M., VLEGGAR R., KRIEK N.P.J. - Fumonisins: novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1988, 54, 1806-1811.
- [14] GELDERBLOM W.C.A., KRIEK N.P.J., MARASAS W.F.O., THIEL P.G. - Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B₁ in rats. *Carcinogenesis*, 1991, 12, 1247-1251.
- [15] HARRISON L.R., COLVIN B.M., GREENE J.T., NEWMAN L.E., COLE J.R. - Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B₁, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1990, 2, 217-221.
- [16] JEMMALI M., UENO Y., ISHII K., FRAYSSINET C., ETIENNE M. - Natural occurrence of trichothecenes (nivalenol, deoxynivalenol, T₂) and zearalenone in corn. *Experientia*, 1978, 34, 1333-1334.
- [17] KUIPER-GOODMAN T., SCOTT P.M., WATANABE H. - Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. *Reg. Toxicol. Pharmacol.*, 1987, 7, 253-306.
- [18] LAFONT P., LAFONT J. - Contaminations du maïs par des mycotoxines. *Bull. Acad. Vét. France*, 1980, 53, 553-558.
- [19] LE BARS J., LE BARS P. - Espèces fongiques des ensilages de maïs. Risques mycotoxiques. *Rec. Méd. Vét.*, 1989, 165, 433-439.
- [20] LE BARS J., LE BARS P., DUPUY J., BOUDRA H., CASSINI R. - Biotic and abiotic factors in fumonisin production and accumulation. Abstracts, 106th AOAC Ann. Intern. Meeting & Exposition (Cincinnati, Ohio, August 31 - September 3, 1992), no. 102.
- [21] LOGRIECO A., BOTTALICO A., RICCI V. - Occurrence of *Fusarium* species and their mycotoxins in cereal grains from some Mediterranean countries. *Phytophat. Medit.*, 1990, 29, 81-89.
- [22] MARASAS W.F.O., KELLERMAN T.S., GELDERBLOM W.C.A., COETZER J.A.W., THIEL P.G., VAN DER LUGT J.J. - Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B₁ isolated from *Fusarium moniliforme*. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1988, 55, 197-203.
- [23] MILLER J.D., SAVARD M., SIBILIA A., RAPIOR S., HOCKING A.E., PITT J.I. - Production of fumonisins and fusarins by *Fusarium moniliforme* from Southeast Asia. *Mycologia*, 1993, 85(3), 385-391.
- [24] NASH S.M., SNYDER W.C. - Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean root rot *Fusarium* in field soils. *Phytopathology*, 1962, 52, 567-572.
- [25] NELSON P.E., PLATTNER R.D., SHACKELFORD D.D., DESJARDINS A.E. - Production of fumonisins by *Fusarium moniliforme* strains from various substrates and geographic areas. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1991, 57, 2410-2412.
- [26] NELSON P.E., PLATTNER R.D., SHACKELFORD D.D., DESJARDINS A.E. - Fumonisin B₁ pro-

- duction by *Fusarium* species other than *F. moniliforme* in section *Liseola* and by some related species. Appl. Environ. Microbiol., 1992, 58, 984-989.
- [27] NELSON P.E., TOUSSOUN T.A., MARASAS W.F.O. - *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. Pennsylvania State Univ. Press, 1983.
- [28] NIRENBERG H.I. - A simplified method for identification of *Fusarium* spp. occurring on wheat. Canad. J. Bot., 1989, 59, 1599-1609.
- [29] PELHATE J. - Mycoflore des maïs-fourrages ensilés - Déterminisme de son évolution. Rev. Mycol., 1975, 39, 65-95.
- [30] PELHATE J. - Mycoflore séminicole des maïs. I - Contamination avant récolte. Rev. Mycol., 1979, 43, 109-129.
- [31] PITTET A., PARISOD V., SCHELLENBERG M. - Occurrence of fumonisins B₁ and B₂ in corn-based products from the Swiss market. J. Agric. Food Chem., 1992, 40, 1352-1354.
- [32] PLATTNER R.D., ROSS P.F., REAGOR J., STEDELIN J., RICE L.G. - Analysis of corn and cultured corn for fumonisin B₁ by HPLC and GC/MS by four laboratories. J. Vet. Diagn. Invest., 1991, 3, 357-358.
- [33] SAVARD M., MILLER J.D. - Characterization of fusarin F, a new fusarin from *Fusarium moniliforme*. J. Nat. Prod., 1992, 55, 64-70.
- [34] SCOTT P.M., LAWRENCE G.A. - Liquid determination of fumonisins with 4-fluoro-7-nitrobenzofurazan. J.A.O.A.C. Int., 1992, 75, 829-834.
- [35] TAYLOR M.J., PANG V.F., BEASLEY V.R. - The immunotoxicity of trichothecene mycotoxins, in V.R. BEASLEY (ed.), *Trichothecene mycotoxicosis: pathophysiologic effects*. Vol. II, CRC Press (Boca Raton), 1989, 1-37.
- [36] THIEL P.G., SHEPHARD G.S., SYDENHAM E.W., MARASAS W.F.O., NELSON P.E., WILSON T.M. - Levels of fumonisins B₁ and B₂ in feeds associated with confirmed cases of equine leukoencephalomalacia. J. Agric. Food Chem., 1991, 39, 109-111.
- [37] THIEL P.G., MARASAS W.F.O., SYDENHAM E.W., SHEPHARD G.S., GELDERBLOM W.C.A., NIEUWENHUIS J.J. - Survey of fumonisin production by *Fusarium* species. Appl. Environ. Microbiol., 1991, 57, 1089-1093.
- [38] THIEL P.G., MARASAS W.F.O., SYDENHAM E.W., SHEPHARD G.S., GELDERBLOM W.C.A. - The implications of naturally occurring levels of fumonisins in corn for human and animal health. Mycopathologia, 1992, 117, 3-9.
- [39] TRENHOLM H.L., PRELUSKY D.B., YOUNG J.C., MILLER J.D. - A practical guide to the prevention of *Fusarium* mycotoxins in grain and animal feedstuffs. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1989, 18, 443-451.
- [40] UENO Y. - *Trichothecenes. Chemical, biological and toxicological aspects*. Y. UENO (ed.), Elsevier (Amsterdam), 1981, 313 p.
- [41] VISCONTI A., DOKO M.B. - Survey of fumonisin production by *Fusarium* isolated from cereals in Europe. J.A.O.A.C. Int., sous presse.

