

MICOTOXINAS E METABÓLITOS BIOATIVOS DE *Fusarium*: PERSPECTIVA DE SUA IMPORTÂNCIA PARA O BRASIL

ELISA YOKO HIROOKA¹
MARGARIDA MASAMI YAMAGUCHI²

HIROOKA, E.Y.; YAMAGUCHI, M.M. Micotoxinas e metabólitos bioativos de *Fusarium*: perspectiva de sua importância para o Brasil. *Semina: Ci. Agr.*, Londrina, v.15, n.1, p.74-79, março 1994.

RESUMO: *Fusarium sp*, fungo amplamente distribuído na natureza, desempenha papel de destaque na intoxicação humana e animal devido a produção de micotoxinas. Por outro lado, linhagens deste fungo são também capazes de produzir metabólitos bioativos com boa perspectiva de aplicação em biotecnologia. Esta revisão discute sobre as toxinas zearalenona, tricotecenos e outras toxinas de *Fusarium*, recentemente caracterizadas denominadas de moniliformina, fusarina e principalmente fumonisina; a importância destas toxinas na micotoxicose animal; o perigo de contaminação do homem com estas toxinas; assim como o potencial do Brasil na utilização de produtos bioativos obtidos de *Fusarium sp*.

PALAVRAS-CHAVE: *Fusarium*; Tricotecenos; Zearalenona; Fumonisinina; *F. moniliforme*.

Fusarium sp, amplamente distribuído na natureza, tem sido isolado de vários produtos agrícolas de interesse econômico, destacando-se o milho, arroz, trigo, cevada, sorgo, feijão, algodão, entre outros (HESSELTINE, 1974; MIROCHA et al., 1976; JOFFE, 1977; HAGLER et al., 1984). Considerado como saprófita de solo e de vegetais em decomposição, também tem sido intensivamente estudado pelos fitopatologistas, por ser parasita responsável de doenças sistêmicas em plantas, resultando em murchas e podridões (STREETS, 1979; JOFFE, 1983; UENO, 1983).

Além de reduzir produção e qualidade de grãos, sua presença desempenha papel de destaque em toxicologia de alimentos, devido a produção de metabólitos secundários tóxicos para humanos e animais (MARASAS, 1979; MIROCHA et al, 1979; PIER, 1981; BULLERMAN et al, 1984; RABIE, 1986; TANAKA et al, 1986; UENO, 1986; TRUCKSESS et al, 1987; TANAKA et al, 1988; SABINO et al, 1989).

Fusarium sp classifica-se entre os fungos de campo, i.e, exigindo elevada umidade para o desenvolvimento, invade a semente e produz toxina no período de pré-colheita (CIEGER et al, 1981). Incapaz de competir com fungos de estocagem devido ao crescimento lento, tende a desaparecer relativamente rápido durante a armazenagem, ficando apenas a toxina produzida durante o seu desenvolvimento (MIROCHA et al, 1977; SUTTON et al, 1980; CIEGLER et al, 1981; POZZI et al, 1991). A desvantagem na competição com a microbiota presente no produto é compensada pela capacidade de desenvolvimento a baixa temperatura (PIER, 1981; UENO, 1983). Esta característica constitui problema sério em países de clima temperado e umidade elevada, quando seu crescimento leva à produção de dois grandes

grupos de micotoxinas: zearalenona, com atividade estrogênica; e tricotecenos, potentes inibidores de síntese protéica e de DNA (MIROCHA et al, 1977; UENO & UENO, 1978; MIROCHA et al, 1979; BUSBY & WOGAN, 1981; UENO, 1983; HAGLER et al, 1984).

A intoxicação por zearalenona e seus derivados causa síndrome estrogênica principalmente em suínos, manifestado através de diminuição na fertilidade, inflamação do útero e vulva, prolapso vaginal, redução da lactação e hiperestrogenismo juvenil (MIROCHA & CHRISTENSEN, 1974; UENO & UENO, 1978; PIER, 1981; TANAKA et al, 1985a e b). A zearalenona, outrora aplicada em animais como anabolizante, foi proibida no Brasil em 1986, seguindo-se a determinação do Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. O recuso de carnes tratadas com este metabólito fúngico pelos países importadores tem fundamento, baseado na sua toxicidade que é maior do que a de luteosquirina e aproximadamente idêntica a de patulina, ambas produzidas por *Penicillium sp* (BUSBY & WOGAN, 1981). Esta decisão é ainda reforçada por resultados de experiências com ratos, onde foi demonstrado a eliminação de apenas 40 a 60% da dose administrada através de fezes no período de 24 horas; e 2 a 4% sendo excretados pela urina (UENO & UENO, 1978). Em gado, o zealanol foi detectado por um período de 90 dias; não sendo detectada numa concentração residual nem em músculos, nem órgãos após 65 e 125 dias, respectivamente, embora traços estivessem presentes na bile do animal (BUSBY & WOGAN, 1981).

Entre as micotoxinas produzidas por *Fusarium sp*, os tricotecenos são as mais potentes e abundantes, tanto numericamente como em frequência na natureza (GILBERT, 1989). A toxina pertence a família dos sesquiterpenoides,

1 - Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos/CCA - Universidade Estadual de Londrina - Caixa Postal 6001, Londrina, Paraná, Brasil, CEP 86051-970.

2 - Aluna de mestrado em Ciências de Alimentos da UEL

sendo caracterizada por um anel 12,13 epoxi-tricotec-9-eno (MIROCHA et al, 1977; UENO, 1983). A intoxicação tem sido associada com anorexia, ataxia, emese, inflamação do trato gastro-intestinal, hemorragia, leucopenia, lesão em linfônodos e medula óssea. Alguns casos fatais em humanos tem sido relatados na U.S.S.R. e a doença denominada de "Alimentary Toxic Aleukia-ATA (YOSHIZAWA & MOROOKA, 1974); UENO, 1983; JOFFE, 1983; COTÉ et al, 1984). O efeito citotóxico é estudado através do teste de dermatite de contato, um método simples e sensível para detectar a presença de substâncias com atividade semelhante a de tricoteceno (JOFFE, 1983). Embora *Fusarium* sp seja o maior produtor de tricotecenos, estes também foram detectados em gêneros tais como: *Cephalosporium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Stachybotrys*, *Dendrodochium* e *Vertimonosporium* (UENO, 1983).

Através da estrutura química os tricotecenos são classificados em quatro subgrupos; os grupos A e B apresentam função cetona no C₈, enquanto que os outros dois grupos denominados de roridinas e verrucarinas respectivamente, apresentam ligação ester macrocíclica entre os carbonos C₄ e C₁₅ (MIROCHA et al, 1977; UENO, 1983). Embora mais de 100 tricotecenos tenham sido isolados e caracterizados, somente nivalenol, deoxinivalenol, toxina T-2, diacetoxiscirpenol, neosolaniol e fusarenona-X foram encontrados como contaminantes naturais dos alimentos (MIROCHA et al, 1976; MARASAS et al, 1979; YOSHIZAWA & HOSOKAWA, 1983; SCOTT et al, 1984; LEE et al, 1986). Existe um relato interessante na literatura em relação a *Baccharis* sp, planta nativa na pastagem da Região Sul do Brasil, responsável pela intoxicação fatal em gado, na concentração de 1g/kg de peso corporal. Esta planta continha 0,02% (peso seco) de tricoteceno macrocíclico denominado de bacarinóide (JARVIS et al, 1983). Na análise do vegetal foi detectada a presença de *Myrothecium* sp e *Fusarium* sp, ambos produtores de tricotecenos na sua rizosfera que, após a absorção, pela planta, provavelmente se transformariam em bacarinóides (KOMMEDAHL et al, 1987; MIROCHA et al, 1989).

Por outro lado, existe um grande interesse na procura de novos tricotecenos devido a sua diversidade bioativa tais como: propriedades inseticidas, antifúngicas, antivirais, antibacterianas, além de fitotoxicidade, citotoxicidade e citostabilidade. O interesse surgiu, com a observação de um potente efeito "in vivo" do extrato de *Baccharis* sp, sobre leucemia em camundongos P.388 (JARVIS et al, 1983). Ao contrário das aflatoxinas, os tricotecenos não apresentam efeito mutagênico (UENO, 1983), o que viabiliza o estudo destas substâncias de citotoxicidade específica, em ensaios contra células cancerosas. Recentemente, um agente imunodepressivo de baixa citotoxicidade e com atividade anticancerígena foi detectado em uma linhagem de *Fusarium* isolada no Norte do Paraná. Estudos posteriores permitiram identificá-lo como ciclosporina A, já sendo utilizada em medicina (Dr. K. Ishii, dados não publicados). Estes resultados apontam uma boa perspectiva para a procura de novos compostos bioativos de *Fusarium* sp no Brasil.

Além de zearalenona e tricotecenos, pesquisas recentes tem mostrado várias novas toxinas de *Fusarium* sp, que

se não enquadram nestas categorias, citando-se a moniliformina, fumonisina, fusarina, butenolida e wortmanina (UENO, 1983; MARASAS et al, 1986; THIEL et al, 1986; ABBAS & MIROCHA, 1988; GELDERBLOM et al, 1988; LU et al, 1988). O redirecionamento ocorreu devido ao isolamento frequente de *E. moniliforme* em milho, produto universalmente comercializado e paralelamente, seu envolvimento com micotoxicoses e efeito tumorigênico, despertando a atenção dos países importadores de grãos (BRIDGES, 1978; MARASAS et al, 1979; KRIEK et al, 1981; MARASAS et al 1984b; JESCHKE et al, 1987; GELDERBLOM et al, 1988; LU et al, 1988; HARRISON et al, 1990; GELDERBLOM et al, 1991a; SYDENHAM et al, 1991b).

E. moniliforme é um patógeno primário de milho, adaptado às condições tropicais e, que difere de outras espécies do gênero, na sua resistência a terores inferiores de umidade (MIROCHA et al, 1977). *E. moniliforme* não produz tricotecenos (MIROCHA et al, 1990), porém está envolvido em intoxicações fatais em animais, especialmente a leucoencefalomalácia equina, da qual existem surtos bem documentados em vários países; Argentina, Brasil, China, Egito, África do Sul e Estados Unidos (RODRIGUEZ, 1945; BRIDGES, 1978; MONINA et al, 1981; HIROOKA et al, 1990; ROSS et al, 1990; WILSON et al, 1990a; MEIRELLES et al, 1991). Esta intoxicação não tem ocorrido apenas na família Equidae, afetando também os suínos. KRIEK et al (1981) observaram edema pulmonar nestes animais e HARRISON et al (1990) observaram lesões idênticas, além da afecção denominada de hidrotórax.

A toxina responsável pelas intoxicações equina e suína acima descritas foi isolada em 1988 por GELDERBLOM et al e denominado de fumonisina. Até o momento, 2 fumonisinas "A" e 4 fumonisinas "B" foram isoladas e caracterizadas (GELDERBLOM et al, 1988; CAWOOD et al, 1991). Estas toxinas também são produzidas por *E. proliferatum* e *E. nygamai* (Ross et al, 1990; THIEL et al, 1991a). Estudos toxicológicos utilizando fumonisinas em animais de laboratório tem reproduzido experimentalmente leucoencefalomalácia equina (MARASAS et al, 1988; KELLERMAN et al, 1990) e edema pulmonar suína (HARRISON et al, 1990). Por outra parte, *E. moniliforme*, considerado até pouco tempo um fungo sem importância na contaminação de alimentos animais e humanos, tem despertado a atenção dos pesquisadores, já que estudos recentes comprovaram a existência de um princípio ativo com a propriedade promotora de carcinogênese (GELDERBLOM et al, 1991b).

No Brasil, o milho, matéria prima básica para produção de ração animal (SABINO et al, 1989), ocupa uma das maiores áreas cultivadas, com 13 milhões de hectares e produção de 26 milhões de toneladas (ANON, 1990a e b). A Região Sul participa com 50% de produção nacional de milho, sendo que entre 20 a 25% corresponde ao Estado do Paraná (FUENTES, 1982). Neste sentido, o Estado do Paraná deve voltar a atenção a fusariose, considerando que as condições climáticas da região propiciam o desenvolvimento do fungo e das decorrentes do mesmo de doenças, em diversas culturas de interesse econômico (CORRÉA et al, 1982; NAZARENO, 1982). Segundo o Instituto Agrônomo do

Paraná - IAPAR, 100% das amostras de milho colhidas no Estado contém *E. moniliforme*, com a conseqüente infecção das sementes utilizadas para o plantio. Estudos esporádicos tem indicado a gravidade e extensão de intoxicações por milho contaminado (BRITO et al, 1982; RIET-CORREA et al, 1982; BARROS et al, 1984; HIROOKA et al, 1988 e 1990a; SANTURIO, 1990; MEIRELLES et al, 1991). Surto em proporção alarmante a nível internacional, equivalente a aflatoxicose com amendoim brasileiro (MOREAU & MOSS, 1979), provavelmente não tenham ocorrido, considerando que a produção de milho no Brasil ainda é insuficiente para a exportação, sendo inclusive inferior a demanda interna do País (ANON, 1990b).

No Estado do Paraná, as micotoxicoses tem sido estudadas em nossa Instituição desde 1985, porém apenas algumas amostras de ração tem apresentado positividade para aflatoxinas e zearalenona (HIROOKA et al, 1990a e 1991). Um total de 21 amostras de ração, a maioria com contagem elevada de *E. moniliforme*, foram enviadas para Research Institute for Nutritional Diseases em África do Sul. Os resultados mostram que a maior parte das amostras apresentaram positividade para a presença de fumonisina B₁ e B₂ e, indícios de fumonisina B₃. Todos os isolados de *E. moniliforme* produziram fumonisina, em concentrações que variaram de 65 a 3.650 ug/g de FB₁ e de 5 a 1.380 ug/g de FB₂, com mortalidade elevada no ensaio em patos (SYDENHAM et al, 1992a).

A alta concentração destas toxinas pode explicar a baixa contaminação por outras micotoxinas em milho de diferentes Regiões do Brasil, 12,3% para aflatoxina B₁ e 4,5% para zearalenona (SABINO et al, 1989).

A zearalenona parece não ser uma toxina comumente presente em *E. moniliforme*, embora existam trabalhos sobre sua produção por algumas linhagens (MARASAS et al, 1984a). A presença de zearalenona em milho em proporção de 4,5%, obtida por SABINO et al (1989) foi a partir de milhos adquiridos em Santa Catarina, pelo que pode-se pensar conseqüentemente, estivesse relacionado a presença de *E. graminearum*. Segundo IAPAR, além de fusariose produzida em milho contaminado por *E. moniliforme*, está aumentando o índice de *E. graminearum* (NAZARENO, 1982), produtor de tricotecenos e zearalenona (UENO, 1983), em regiões climáticas de temperaturas mais baixas.

Por outro lado, *E. moniliforme* produz giberelina, hormônio de crescimento em plantas e tendo em vista que um componente do grupo, o ácido giberérico exibe efeito estrogênico (MARASAS et al, 1984a), o estrogenismo em suínos observado na região, poderia estar relacionado a presença deste metabólito (HIROOKA et al, 1991).

Surto de intoxicação em coelhos e aves que tinham ingerido ração apresentando elevada contaminação por *E. moniliforme*, foram estudados em nossos laboratórios, porém não foi possível ainda determinar o princípio tóxico

responsável pelos mesmos (JESCHKE et al, 1987; HIROOKA et al, 1991; SYDENHAM et al, 1992a). Considerando, por um lado que os animais apresentavam lesões hemorrágicas, e por outro, sabendo que *E. moniliforme* não produz tricotecenos, o possível composto suspeito dessa ação poderia ser a wortmanina, um esteróide tóxico recentemente isolado de *Fusarium* sp (ABBAS & MIROCHA, 1988).

A ausência de produção de tricotecenos por *E. moniliforme* isolado da Região (HIROOKA et al, 1990b) é reforçada pelos resultados de MIROCHA et al (1990), que estudaram linhagens isoladas de espécimens coletados em diferentes localidades do mundo e que detectaram 53% de mortalidade em ratos e 75% de toxidez para patos. Todos os isolados foram negativos para 13 tricotecenos analisados, além de zearalenona, moniliformina, fusarochromanona, fusarina e wortmanina. Apesar de não ter analisado fumonisina, o trabalho aponta um forte indício da presença de uma toxina potente, diferente de tricotecenos, produzida por *E. moniliforme* (MIROCHA et al, 1990).

Desconhece-se o efeito destes metabólitos em humanos, porém o acesoramento de fumonisina em alimentos e rações, conjuntamente com os dados experimentais obtidos em animais, seria de fundamental importância para determinar níveis de tolerância, afim de reduzir o risco de exposição.

Vários métodos analíticos para a determinação de fumonisina tem sido desenvolvidos (GELDERBLUM et al, 1988; PLATTNER et al, 1990; SHEPHARD et al, 1990; SYDENHAM et al, 1990; WILSON et al, 1990b), sendo alguns utilizados para a determinação de toxina em amostras de ração envolvido com leucoencefalomalácia equina e edema pulmonar em suínos (HARRISON et al, 1990; PLATTNER et al, 1990; SHEPHARD et al, 1990; ROSS et al, 1991; WILSON et al, 1990b; THIEL et al, 1991b; SYDENHAM et al 1992b). Com objetivo de simplificar e aprimorar a detecção direta de fumonisina em alimentos, a cromatografia líquida de alto desempenho - HPLC, primeiramente descrita por SHEPHARD et al (1990) está sendo submetida a modificações, em estudo colaborativo entre Dr. P.G. Thiel e Dr. K. Ishii (informação pessoal, Dr. K. Ishii de Science University of Tokyo). Este método foi utilizado para a análise de amostras envolvidas em intoxicações de animais na Região do Paraná (SYDENHAM et al, 1992a).

Em suma, a importância do problema em estudo fundamenta-se tanto em aspectos higiênicos sanitários como econômicos, já que *E. moniliforme* produtor de toxinas altamente tóxicas para animais e humanos se desenvolve em grãos de grande consumo, tanto para rações animais como alimento para humano. Indubidavelmente este problema é importante tanto para o consumo interno quanto para a exportação de produto passíveis de contaminação por este fungo.

HIROOKA, E.Y.; YAMAGUCHI, M.M. Mycotoxins and bioactive metabolites from *Fusarium*: prospect of their importance in Brazil. *Semina: Ci. Agr.*, Londrina, v.15, n.1, p.74-79, march 1994.

ABSTRACT: *Fusarium sp* is a fungus widely spread present in nature, associated with human and animal intoxications as consequence of mycotoxins production. On the other hand, this fungal specie is also able to produce bioactive metabolites with good perspective in biotechnology application. This review discusses about zearalenone, trichothecenes, and the recently, characterized *Fusarium* toxins represented by moniliformin, fusarin and fumonisin; the importance of these toxins in animal mycotoxicoses, and the danger of human contamination as well as the Brazilian potential for the research to bioactive products from *Fusarium sp*.

KEY WORDS: *Fusarium*, trichothecenes, zearalenone, fumonisin, *F. moniliforme*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, H.K.; MIROCHA, C.J. Biological and chemical properties of a hemorrhagic factor (wortmannin) produced by *Fusarium* species. In: *Cellular and Molecular mode of action of selected microbial toxins in foods and feeds*. National 4-H Center, Chevy Chase, Madison, p. 8, 1988.
- ANON. Acompanhamento da situação agropecuária do Paraná. Governo do Estado do Paraná. *Secr. Agric. Abastecimento - SEAB.*, v. 16, n. 9, p. 32-34, 1990a.
- ANON. Oportunidade na crise. *Rev. Globo Rural - Economia*, v. 55, p. 4-7, 1990b.
- BARROS, C.S.L.; BARROS, S.L.; SANTOS, M.N.; SOUZA, M.A. Leucoencefalomalácia em equinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 4, p. 101-107, 1984.
- BRIDGES, C.H. Mycotoxicoses in horses. In: WYLLIE, T.D. & MOREHOUSE, L.G. *Mycotoxic fungi, Mycotoxins, mycotoxicoses*, New York, v.2, p. 137-181, 1978.
- BRITO, L.A.B.; NOGUEIRA, R.M.G.; PEREIRA, J.J.; CHAQUILOFF, M.A.G. Leucoencefalomalácia em equinos associada a infestação de milho mofado. *Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais*, v. 34, p. 49-53, 1982.
- BULLERMAN, L.B.; SCHROEDER, L.L.; PARK, K.Y. Formation and control of mycotoxins in food. *J. Food Protec.*, v. 47, n. 8, p. 637-646, 1984.
- BUSBY, W.F. JUNIOR; WOGAN, G.N. Zearalenone and its derivatives. In: SHANK, R.C. *Mycotoxins and N-nitroso compounds: environmental risks*. Florida: CRC Press, 1981. v. II, p. 145-193.
- CAWOOD, M.E.; GELDERBLOM, W.C.A.; VLEGGAAR, R.; BEHREND, Y.; THIEL, P.G.; MARASAS, W.F.O. Isolation of the fumonisin mycotoxins - a quantitative approach. *J. Agric. food Chem*, 1991, (in press).
- CIEGLER, A.; BURMEISTER, H.R.; VESONDER, R.F.; HESSELTINE, C.W. Mycotoxins: occurrence in the environment. In: SHANK, R.C. *Mycotoxins and N-nitroso compounds: environmental risks*. Florida: CRC Press, 1981. v. I, p. 1-50.
- CORRÊA, A.R.; GODOY, H.; BERNARDES, L.R.M. Características climáticas de Londrina. *Circ. IAPAR*, v. 5, p. 16, 1982.
- CÔTE, L.M.; REYNOLDS, J.D.; VESONDER, R.F.; BUCK, W.B.; SWANSON, S.P.; COFFEY, R.C.; BROWN, D.C. Survey for vomitoxin contaminated feed grain in midwestern United States and Associated health problems in swine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 184, p. 189-192, 1984.
- FISCHER, N.L.; BURGESS, L.W.; TOUSSOUN, T.A.; NELSON, E. Carnation leaves as a substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species. *Phytopathology*, v. 72, p. 151-153, 1982.
- FUENTES, R.L. Panorama da produção e perspectivas da cultura. In: SECRETARIA DE AGRICULTURA. *O milho no Paraná. Circ. IAPAR*, v. 29, p. 5-17, 1982.
- GELDERBLOM, W.C.A.; JASKIEWICZ, K.; MARASAS, W.F.O.; THIEL, P.G.; HORAK, R.M.; VLEGGAAR, R.; KRIEK, N.P.J. Fumonins - novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.* v. 54, p. 1806-1811, 1988.
- 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*, v. 12, p. 1247-1251, 1991a.
- GELDERBLOM, W.C.A.; MARASAS, W.F.O.; VLEGGAAR, R.; THIEL, P.G.; CAWOOD, M.E. Fumonins: Isolation, chemical characterization and biological effects. *Mycopathologia*, v. 117, p. 11-16, 1991b.
- GILBERT, J. Current views on the occurrence and significance of *Fusarium* toxins. *J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl.*, p. 89s-98s, 1989.
- HAGLER, W.M.; TYCZKOWSKA, K.; HAMILTON, P.B. Simultaneous occurrence of deoxynivalenol, zearalenone, and aflatoxin in 1982 scabby wheat from the Midwestern United States. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 47, p. 151-154, 1984.
- HARRISON, L.R.; COLVIN, B.M.; GREENE, J.T.; NEWMAN, L.E.; COLE JUNIOR, R.R. Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B₁, a toxic metabolite on *Fusarium moniliforme*. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 2, p. 217-221, 1990.
- HESSELTINE, C.W. Natural occurrence of mycotoxin in cereals. *Mycopathol. Mycol. Applic.*, v. 53, n. 141-153, 1974.
- HIROOKA, E.Y.; VIOTTI, N.M.A.; SOARES, L.M.V.; AL FIERI, A.A. Intoxicação em equinos por micotoxinas produzidas por *E. moniliforme* no Norte do Paraná. *Semina*: v. 9, p. 135-41, 1988.
- HIROOKA, E.Y.; VIOTTI, N.M.A.; MAROCHI, M.A.; ISHII, K.; UENO, Y. Leucoencefalomalácia em equinos do Norte do Paraná. *Rev. Microbiol.*, v. 21, n. 3, p. 223-227, 1990a.
- HIROOKA, E.Y.; LEONI, L.A.B.; MENEZES, J.R.; VIOTTI, N.M.A.; ISHII, K.; UENO, Y. Aspectos toxicológicos sobre *Fusarium sp* de origem vegetal e de alimentação animal. In: ENCONTRO NAC. MICOTOXINAS, v. 6, 1990b, São Paulo *Anais...* São Paulo, 1990b. p. 34.
- HIROOKA, E.Y.; SHIBATA, T.M.M.; VIOTTI, M.A.; CARVALHO, L.; TAKAHASHI, L.S.A.; SOUZA, I.F.; POPPER, I.O.P.; MARASAS, W.F.O. Fumonins: importância de nova toxina de *Fusarium moniliforme* em intoxicação no Norte do Paraná. *Rev. Microbiol.*, v. 22, n. 3, p. 312, 1991, Suplemento 1.

- JARVIS, B.B.; EPPLEY, R.M.; MAZZOLA, E.P. Chemistry and bioproduction of macrocyclic trichothecenes. In: UENO, Y. *Trichothecenes: chemical biological and toxicological aspects*. Tokyo: Kodansha, 1983. p. 20-38.
- JESCHKE, N.; NELSON, P.E.; MARASAS, W.F.O. Toxicity to ducklings of *Fusarium moniliforme* isolated from corn intended for use in poultry feed. *Poult. Sci.*, v. 66, p. 1619-1623, 1987.
- JOFFE, A.Z. The genus *Fusarium*. In: WYLLIE, T.D. & MOREHOUSE, L.G. *Mycotoxigenic fungi mycotoxins and mycotoxicoses*. New York: Marcel Dekker, 1977. v. 1, p. 59-82.
- JOFFE, A.Z. Foodborne diseases: alimentary toxic aleukia. In: RECHCIGL JUNIOR, M. *Handbook of foodborne diseases of biological origin*. Florida: CRC Press, 1983, p. 353-495.
- KELLERMAN, T.S.; MARASAS, W.F.O.; THIEL, P.G.; GELDERBLUM, W.C.A.; CAWOOD, M.E.; COETZER, J.A.W. Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of fumonisin B₁. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v. 57, p. 269-275, 1990.
- KOMMEDAHL, T.; ABBAS, H.K.; MIROCHA, C.J.; BEAN, G.A.; JARVIS, B.B.; GUO, M.D. Toxicogenic *Fusarium* species found in roots and rhizospheres of *Baccharis* species from Brazil. *Phytopathology*, v. 77, n. 4, p. 584-588, 1987.
- KRIEK, N.P.J.; KELLERMAN, T.S.; MARASAS, W.F.O. A comparative study of the toxicity of *Fusarium verticillioides* (= *E. moniliforme*) to horses, primates pigs, sheep and rats. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v. 48, p. 129-131, 1981.
- LEE, U.; JANG, H.; TANAKA, T.; TOYASAKI, N.; SUGIURA, Y.; OH, I.; CHO, C.; UENO, Y. Mycological survey of Korean cereals and production of mycotoxins by *Fusarium* isolates. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 52, n. 6, p. 1258-1260, 1986.
- LU, S.J.; RONAI, Z.A.; LI, M.H.; JEFFREY, A.M. *Fusarium moniliforme* metabolites: genotoxicity of culture extracts. *Carcinogenesis*, v. 9, n. 9, p. 1523-1527, 1988.
- MARASAS, W.F.O.; KRIEK, N.P.J.; WIGGINS, V.; STEYN, P.S.; TOWERS, D.K.; HASTIE, T.J. Incidence, geographical distribution and toxigenicity of *Fusarium* species in South African corn. *Phytopathology*, v. 69, p. 1181-1185, 1979.
- MARASAS, W.F.O.; NELSON, P.E.; TOUSSOUN, T.A. *Toxicogenic Fusarium species. Identity and mycotoxicology*. Pennsylvania: The Pennsylvania State University Press, University Park, 1984a.
- MARASAS, W.F.O.; KRIEK, N.P.J.; JINCHAN, J.E.; VAN RENSBURG, S.J. Primary liver cancer and esophageal basal cell hyperplasia in rats caused by *Fusarium moniliforme*. *Intern. J. Cancer*, v. 34, p. 383,387, 1984b.
- MARASAS, W.F.O.; THIEL, P.G.; RABIE, C.J.; NELSON, P.E.; TOUSSOUN, T.A. Moniliformin production in *Fusarium* section *Liseola*. *Mycologia*, v. 78, n. 2, p. 242-247, 1986.
- MARASAS, W.F.O.; KELLERMAN, T.S.; GELDERBLUM, 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.*, v. 55, p. 197-203, 1988.
- MEIRELLES, M.C.A.; CORRÊA, B.; FISCHMAN, O.; RIET-CORRÊA, F.; PAULA, C.R.; GAMBALE, W.; CHACON-RECHE, N.O. Leucoencefalomalácia equina (LEME) no Brasil. I aspectos clínico-patológicos e microbiológicos dos surtos ocorridos nos cinco anos de 1988 a 1990. *Rev. Microbiol.*, 22 (3, supl 1): 315, 1991, v. 22, n. 3, p. 315, 1991. Suplemento 1.
- MIROCHA, C.J.; CHRISTENSEN, C.M. Oestrogenic mycotoxins synthesized by *Fusarium*. In: PURCHASE, I.F.H. *Mycotoxins*. Amsterdam: Elsevier, 1974. p. 129-148.
- MIROCHA, C.F.; ABBAS, H.K.; VESONDER, R.F. Absence of trichothecenes in toxigenic isolates of *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 56, n. 2, p. 520-525, 1990.
- MIROCHA, C.J.; PATHRE, S.V.; CHRISTENSEN, C.M. Chemistry of *Fusarium* and *S. achybotrys* mycotoxins. In: WYLLIE, T.D. & MOREHOUSE, L.G. *Mycotoxic fungi, mycotoxins, mycotoxicoses*. New York: Marcel Dekker, 1977, p. 365-420.
- MIROCHA, C.J.; SCHAUERHAMER, B.; CHRISTENSEN, C.M.; NIKUPAAVOLA, M.L.; NUMMI, N. Incidence of zearalenol (*Fusarium* mycotoxin) in animal feed. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 38, p. 749-750, 1979.
- MIROCHA, C.J.; ABBAS, H.K.; KOMMEDAHL, T.; JARVIS, B.B. Mycotoxin production by *Fusarium oxysporum* and *Fusarium sporotrichioides* isolated from *Baccharis* spp. from Brazil. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 55, n. 1, p. 254-255, 1989.
- MIROCHA, C.J.; PATHER, S.V.; SEHAWERHAMER, B.; CHRISTENSEN, C.M. Natural occurrence of *Fusarium* toxins in feedstuff. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 32, p. 553-556, 1976.
- MONINA, M.I.; MOSCOTENA, E.A.; RUAGAR, J.; IDIART, J.R.; REINOSO, E.H.; MURO, A.; NOSETTO, E.O.; PONS, E.R. Leucoencefalomalácia equina. Casos registrados en el país. *Rev. Militar Veterinária*, v. 28, p. 134-17, 1981.
- MOREAU, C.; MOSS, M. *Moulds, Toxins and Food*. 2. ed. Chichester: John Wiley & Sons, 1979. 477 p.
- NAZARENO, N.R.X. Controle de doenças. *Circ. IAPAR*, v. 29, p. 149-163, 1982.
- PIER, A.C. Mycotoxin and animal health. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, v. 25, p. 185-243, 1981.
- PLATTNER, R.D.; NORRED, W.P.; BACON, C.W.; VOSS, K.A.; SHACKEL FORD, D.D.; WEISLEDER, D. A method of detection of fumonisins in corn samples associated with field cases of equine leukoencephalomalacia. *Mycologia*, v. 82, p. 698-702, 1990.
- POZZI, C.R.; CORRÊA, B.; GAMBALE, W.; PAULA, C.R.; CHACONRECHE, N.O.; BORGHI, L.A.; PALMA, A. Milho pós-colheita e armazenado: interação microbiota fúngica x fatores abióticos. Parte I. *Rev. Microbiol.*, v. 22, n. 3, p. 317, 1991. Supl. 1.
- RABIE, C.J. T-2 toxins production by *Fusarium acuminatum* isolates from oats and barley. *Appl. Environ. Microb.*, v. 52, n. 9, p. 594-596, 1986.
- RIET-CORREA, F.; MEIRELLES, M.A.; SOARES, J.M.; MACHADO, J.J.; ZAMBRANO, A.F. Leucoencefalomalácia em equinos associada à ingestão de milho mofado. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 2, p. 27-30, 1982.
- RODRIGUEZ, J.A. Diferenciación entre la enfermedad de los rastrojos y la meningo encefalomiелitis infecciosa de los equinos. *Anales Soc. Argentina*, v. 69, p. 305-307, 1945.
- ROSS, P.F.; NELSON, P.E.; RICHARD, J.L.; OSWEILER, G.D.; RICE, L.G.; PLATTNER, R.D.; WILSON, T.M. Production of fumonisins by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates associated with equine leukoencephalomalacia and pulmonary edema syndrome in swine. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 56, p. 3225-3226, 1990.
- ROSS, P.F.; RICHE, L.G.; PLATTNER, R.D.; OSWEILER, G.D.; WILSON, T.M.; OWENS, D.L.; NELSON, H.A.; RICHARD, J.L. Concentrations of fumonisin B₁ in feeds associated with animal health problems. *Mycopathologia*, v. 114, p. 129-135, 1991.

- SABINO, M.; PRADO, G.; INOMATA, E.I.; PEDROSO, M.O.; GARCIA, R.V. Natural occurrence of aflatoxins and zearalenone in maize in Brasil. Part II. *Food Add. Contam.*, v. 6, p. 327-331, 1989.
- SANTURIO, J.M. Micotoxinas em animais do Rio Grande do Sul. In: ENCONTRO NACIONAL DE MICOTOXINAS, 6, 1990, São Paulo. *Anais...* São Paulo, 1990, p. 9.
- SCOTT, P.M.; NELSON, K.; KANHERE, S.R.; KARPINSKI, K.F.; HAYWARD, S.; NEISH, G.A.; TEICH, A.H. Decline in deoxynivalenol (vomitoxin) concentration in 1983. Ontario winter wheat before harvest. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 48, p. 884-886, 1984.
- SHEPHARD, G.S.; SYDENHAM, E.W.; THIEL, P.G.; GELDERBLOM, W.C.A. Quantitative determination of fumonisins B₁ and B₂ by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Liq. Chromatogr.*, v. 13, p. 2077-2087, 1990.
- STREETS, R.B. *The diagnosis of plant diseases*. Tucson: University of Arizona Press, 1979.
- SUTTON, J.C.; P. Baliko, W.; FUNNELL, h.S. Relation of weather variables to incidence of zearalenone in corn in Southern Ontario. *Can. J. Plant. Sci.*, v. 60, p. 149-155, 1980.
- SYDENHAM, E.W.; GELDERBLOM, W.C.A.; THIEL, P.G.; MARASAS, W.F.O. Evidence for the natural occurrence of fumonisin B₁, a mycotoxin produced by *Fusarium moniliforme*, in corn. *J. Agric. Food Chem.*, v. 38, p. 285-290, 1990.
- SYDENHAM, E.W.; MARASAS, W.F.O.; SHEPHARD, G.S.; THIEL, P.G.; HIROOKA, E.Y. Fumonisin concentrations in Brazilian feeds associated with field outbreaks of animal mycotoxicoses. *J. Agricult. Food Chemst.*, v. 40, p. 994-997, 1992a.
- SYDENHAM, E.W.; SHEPHARD, G.S.; THIEL, P.G. Liquid chromatographic determination of fumonisins B₁, B₂ and B₃ in foods and feeds. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v. 75, n. 2, p. 313-318, 1991a.
- SYDENHAM, E.W.; SHEPHARD, G.S.; THIEL, P.G.; MARASAS, W.F.O.; STOCKENSTROM, S. Fumonisin contamination of commercial corn-based human foodstuffs. *J. Agric. Food. Chem.*, v. 39, p. 2014-2018, 1991.
- TANAKA, T.L.; HASEGAWA, A.; MATSUKI, Y.; ISHII, K.; UENO, Y. Improved methodology for the simultaneous detection of the *Fusarium* mycotoxins deoxynivalenol and nivalenol in cereals. *Food Addit Contam.*, v. 2, p. 125-137, 1985a.
- TANAKA, T.L.; HASEGAWA, A.; MATSUKI, Y.; LEE, V.S.; UENO, Y. Rapid and sensitive determination of zearalenone in cereals by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr.*, v. 328, p. 271-278, 1985b.
- TANAKA, T.; HASEGAWA, A.; MATSUKI, Y.; LEE, U.; UENO, Y. A limited survey of *Fusarium* mycotoxin nivalenol, deoxynivalenol and zearalenone in 1984 UK harvested wheat and barley. *Food Add. Contam.*, v. 3, n. 3, p. 247-252, 1986.
- TANAKA' T.; HASEGAWA, A.; YAMAMOTO, S.; LEE, U.; SUGIURA, Y.; UENO, Y. Worldwide contamination of cereals by the *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol and zearalenone. 1 - Survey of 19 countries. *J. Agric. Food. Chem.*, v. 36, n. 5, p. 979-983, 1988.
- THIEL, P.G.; GELDERBLOM, W.C.A.; MARASAS, W.F.O.; NELSON, P.E.; WILSON, T.M. Natural occurrence of moniliformin and fusarium C in corn screenings known to be hepatocarcinogenic in rats. *J. Agricult. Food. Chemist.*, v. 34, p. 773-775, 1986.
- 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.*, v. 57, p. 1089-1093, 1991a.
- 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.*, v. 39, p. 109-111, 1991b.
- TRUCKSESS, M.W.; FLOOD, M.T.; MOSSOBA, M.M.; PAGE, S.W. High performance thin-layer chromatographic determination of deoxynivalenol, fusarenon X, and nivalenol in barley, corn, and wheat. *J. Agric. Food. Chem.*, v. 35, n. 4, p. 445-448, 1987.
- UENO, Y. Trichothecene as environmental toxicants. *Rev. Environ. Toxicol.*, v. 2, p. 303-341, 1986.
- UENO, Y. *Trichothecenes - chemical, biological and toxicological aspects*. Tokyo: Kodansha, 1983.
- UENO, Y.; UENO, I. Toxicology and biochemistry of mycotoxins. In: URAGUCHI, K.; YAMAZAKI, M. *Toxicology biochemistry and pathology of mucotoxins*. Tokyo: Kodansha, 1978. p. 107-188.
- YOSHIZAWA, T.; MOROOKA, N. Studies on the toxic substances in the infected cereals. Acute toxicities of new trichothecene mycotoxins: deoxynivalenol and its monoacetate. *J. Food. Hyg. Soc. Japan.*, v. 15, p. 261-269, 1974.
- YOSHIZAWA, T.; HOSOKAWA, H. Natural occurrence of deoxynivalenol and nivalenol, trichothecene mycotoxins in commercial foods. *J. Food. Hyg. Soc. Japan.*, v. 24, p. 413-415, 1983.
- WILSON, T.M.; NELSON, P.E.; MARASAS, W.F.O.; THIEL, P.G.; SHEPHARD, G.S.; SYDENHAM, E.W.; NELSON, H.A.; ROSS, P.F. A mycological evaluation and in vivo toxicity evaluation of feed from 41 farms with equine leukoencephalomalacia. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 2, p. 352-354, 1990a.
- WILSON, T.M.; ROSS, P.R.; RICE, L.G.; OSWEILER, G.D.; NELSON, H.A.; OWENS, D.L.; PLATTNER, R.D.; REGGIARDO, C.; NOON, T.H.; PICKERELL, J.W. Fumonisin B₁ levels associated with an epizootic of equine leukoencephalomalacia. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 2, p. 213-216, 1990b.

Recebido para publicação em 16/10/1991