

Tabla 10.-Efecto de los extractos metanólicos de *A. asperrima* y *A. striata* sobre la producción de aflatoxinas por la cepa 1299 de *A. flavus* en medio A&M.

Cepas fúngicas	[CMI]	Aflatoxinas ($\mu\text{g}/\text{ml}$)			
		B1	B2	G1	G2
<i>A. asperrima</i>	25%	0.60±0.17*	0.97±0.25	ND	ND
	50%	0.25±0.04	0.12±0.09	ND	ND
	75%	0.07±0.01	0.05±0.02	ND	ND
	Ctr	0.72±0.09	0.95±0.21	<0.00008	<0.00008
<i>A. striata</i>	25%	0.38±0.04	0.415±0.12	ND	ND
	50%	0.14±0.03	0.29±0.13	ND	ND
	75%	0.05±0.1	ND	ND	ND
	Ctr	0.682±0.11	0.91±0.16	ND	ND

*.- Error estándar de la media. ND.- No Detectado

La cepa 148 de *A. parasiticus*, normalmente produjo las cuatro principales aflatoxinas B1, B2, G1 y G2. En esta cepa la aflatoxina G1 fue la que se produjo en mayor cantidad (1.04 $\mu\text{g}/\text{ml}$) luego la B1 (0.87 $\mu\text{g}/\text{ml}$), la B2 (0.52 $\mu\text{g}/\text{ml}$) y por último la G2 (0.07 $\mu\text{g}/\text{ml}$) (Tabla 11).

A diferencia de *A. flavus*, el análisis estadístico mostró que las cepas de *A. parasiticus* mostraron diferencias significativas ($p=0.05$) entre el control y entre todas las concentraciones de extracto adicionadas (Tabla 11)

El extracto de *A. asperrima* provocó una reducción en la producción de aflatoxinas. Esa reducción varió del 57 al 99%, de acuerdo a la cantidad de extracto agregado.

Tabla 11.- Efecto de los extractos metanólicos de *A. asperrima* y *A. striata* sobre la producción de aflatoxinas por la cepa 148 de *A. parasiticus* en medio A&M.

Cepas fúngicas		Aflatoxina ($\mu\text{g}/\text{ml}$)			
		B1	B2	G1	G2
<i>A. asperrima</i>	25%	0.04 \pm 0.01*	0.29 \pm 0.13	0.2 \pm 0.08	ND
	50%	<0.00008	0.001 \pm 0.0003	0.04 \pm 0.01	ND
	75%	<0.00008	<0.00008	<0.00008	ND
	Ctr	0.87 \pm 0.21	0.52 \pm 0.18	1.88 \pm 0.21	ND
<i>A. striata</i>	25%	0.77 \pm 0.12	0.26 \pm 0.03	<0.00008	0.69 \pm 0.27
	50%	0.30 \pm 0.04	0.14 \pm 0.05	<0.00008	<0.00008
	75%	0.069 \pm 0.02	<0.00008	<0.00008	<0.00008
	Ctr	1.81 \pm 0.19	1.55 \pm 0.27	1.04 \pm 0.31	0.07 \pm 0.012

*.- Error estándar de la media. ND.- No Detectado

De la misma forma la cepa Su-I también sintetizó las 4 aflatoxinas. En este caso la tendencia fue muy similar a la expuesta por la cepa 148, en donde el extracto de *A. striata* fue más efectivo para inhibir la síntesis de aflatoxinas, encontrando porcentajes de reducción 61 al 99.9% de acuerdo a la cantidad de extracto agregado (25, 50 y 75% de la CMI) (Tabla 9). Al utilizar el 25% de la CMI del extracto de *A. asperrima* solamente se inhibió significativamente ($p=0.05$) a las aflatoxinas G1 y G2. Sin embargo, la utilización del 50 o el 75% de la CMI causó reducciones significativas ($p=0.05$) arriba del 90%. Por último, al agregar el 75% de la CMI no se detectaron síntesis de la aflatoxina B2 y G1, y la reducción de B1 fue de 97% y de G2 fue del 99% (Tabla 12).

Tabla 12.- Efecto de los extractos de *A. asperrima* y *A. striata* sobre la producción de aflatoxinas por la cepa Su-I de *A. parasiticus* en medio A&M.

Cepas fúngicas	[CMI]	Aflatoxinas ($\mu\text{g}/\text{ml}$)			
		B1	B2	G1	G2
<i>A. asperrima</i>	25%	0.58±0.09*	1.42±0.6	0.23±0.06	0.19±0.07
	50%	0.22±0.07	0.16±0.03	0.02±0.001	0.08±0.002
	75%	0.04±0.01	ND	ND	<0.00008
	Ctr	1.02±0.3	2.29±0.09	0.61±0.1	0.00008
<i>A. striata</i>	25%	<0.00008	0.84±0.25	0.36±0.08	<0.00008
	50%	0.16±0.02	0.09±0.03	<0.00008	<0.00008
	75%	0.015±0.002	<0.00008	ND	ND
	Ctr	0.69±0.2	1.21±0.06	0.94±0.24	<0.00008

*.- Error estándar de la media. ND.- No Detectado

CONDICIONES SIMULADAS DE ALMACÉN

Para el caso de los ensayos en condiciones simuladas de almacén, la síntesis de aflatoxinas se vió significativamente ($p=0.05$) disminuida en todos los controles, en comparación con los del medio líquido, de hecho en muchos casos no se logró determinar la concentración de las aflatoxinas, debido a las pequeñas cantidades sintetizadas. Estos resultados se muestran en las (Tablas 13 – 16).

Las cepas 1273 y 1299 de *A. flavus* presentaron comportamientos similares, ya que ambas cepas no sintetizaron las aflatoxinas G1 y G2. En la mayoría de las cepas se produjeron reducciones significativas ($p=0.05$), al agregar el 50 y 75% de los extractos analizados. Los extractos a una concentración del 50% de la CMI produjo una inhibición del 99% de la producción de aflatoxinas, mientras que al

utilizar el 75%, no se detectaron aflatoxinas. Por el contrario en la cepa 1299, todas las concentraciones probadas inhibieron significativamente ($p=0.05$) la síntesis de aflatoxinas, la mayoría con valores superiores al 98%. (Tablas 13 y 14)

Tabla No 13.- Efecto de los extractos metanólicos de *A. asperiflora* y *A. striata* sobre la producción de aflatoxinas por la cepa 1273 de *A. flavus* en condiciones simuladas de almacén.

Cepas fúngicas	[CMI]	Aflatoxinas ($\mu\text{g}/\text{ml}$)			
		B1	B2	G1	G2
<i>A. asperiflora</i>	25%	0.03 \pm 0.001*	0.028 \pm 0.0006	ND	ND
	50%	<0.00008	<0.00008	ND	ND
	75%	ND	ND	ND	ND
	Ctr	0.042 \pm 0.002	0.053 \pm 0.004	ND	ND
<i>A. striata</i>	25%	0.013 \pm 0.003	<0.00008	ND	ND
	50%	<0.00008	<0.00008	ND	ND
	75%	ND	ND	ND	ND
	Ctr	0.016 \pm 0.001	0.049 \pm 0.003	ND	ND

*.- Error estándar de la media. ND.- No Detectado

Tabla No 14.- Efecto de los extractos metanólicos de *A. asperiflora* y *A. striata* sobre la producción de aflatoxinas por la cepa 1299 de *A. flavus* en condiciones simuladas de almacén.

Cepas fúngicas	[CMI]	Aflatoxinas ($\mu\text{g}/\text{ml}$)			
		B1	B2	G1	G2
<i>A. asperiflora</i>	25%	<0.00008*	0.02 \pm 0.0001	ND	ND
	50%	<0.00008	<0.00008	ND	ND

<i>A. striata</i>	75%	<0.00008	<0.00008	ND	ND
	Ctr	0.09±0.002	0.13±0.0005	<0.00008	ND
	25%	<0.00008	<0.00008	ND	ND
	50%	<0.00008	ND	ND	ND
	75%	ND	ND	ND	ND
	Ctr	0.005±0.00001	0.01±0.00015	ND	ND

*.- Error estándar de la media. ND.- No Detectado

Para el caso de la cepa 148 de *A. parasiticus*, se cuantificó la cantidad de aflatoxina B2 solamente en los controles, ya que al agregar los extractos en los demás casos, se inhibió casi por completo la síntesis de aflatoxinas (Tabla 15). Podemos observar al agregar extractos a una concentración del 50 y 75% de la CMI, produjo una inhibición de la síntesis de aflatoxinas en valores superiores al 99%, tanto al utilizar el extracto de *A. aspergilla* como de *A. striata*. La cantidad de aflatoxinas B1, G1 y G2 no se lograron cuantificar, mas sin embargo, notamos que su nivel diminuye; ya que al agregar el 50% de la CMI ya no se detectan cantidades de aflatoxinas B1 y G1, mientras que con la G2, solamente concentraciones de extractos correspondientes al 75% la inhibieron en su totalidad (Tabla 15).

Tabla No 15.- Efecto de los extractos metanólicos de *A. aspergilla* y *A. striata* sobre la producción de aflatoxinas por la cepa 148 de *A. parasiticus* en condiciones simuladas de almacén.

Cepas fúngicas	[CMI]	Aflatoxinas ($\mu\text{g}/\text{ml}$)			
		B1	B2	G1	G2
<i>A. aspergilla</i>	25%	<0.00008*	0.01±0.0001	<0.00008	<0.00008
	50%	ND	<0.00008	ND	<0.00008
	75%	ND	<0.00008	ND	ND

	Ctr	<0.00008	0.021±0.00003	<0.00008	<0.00008
<i>A. striata</i>	25%	<0.00008	<0.00008	<0.00008	ND
	50%	<0.00008	<0.00008	<0.00008	ND
	75%	ND	ND	ND	ND
	Ctr	<0.00008	0.045±0.00001	<0.00008	<0.00008

*.- Error estándar de la media. ND.- No Detectado

Por último la cepa Su-I mostró el mismo comportamiento de la cepa 148 (Tabla 16). Se presentó una reducción del 77 al 99% al utilizar el extracto de *A. asperiflora* mientras que con el extracto de *A. striata* la inhibición de la síntesis fue superior al 99%. El 75% de la CMI inhibió en su totalidad la síntesis de aflatoxinas, excepto la B1, que aunque no se pudo cuantificar, la sintetizó en valores menores a 0.00008 µg/ml (Tabla 16).

Tabla No 16.- Efecto de los extractos metanólicos de *A. asperiflora* y *A. striata* sobre la producción de aflatoxinas por la cepa Su-I de *A. parasiticus* en condiciones simuladas de almacén.

Cepas fúngicas	[CMI]	Aflatoxinas (µg/ml)			
		B1	B2	G1	G2
<i>A. asperiflora</i>	25%	0.005±0.0006*	0.02±0.007	<0.00008	<0.00008
	50%	<0.00008	<0.00008	<0.00008	<0.00008
	75%	ND	<0.00008	ND	ND
	Ctr	0.01±0.004	0.09±0.02	0.014±0.004	0.12±0.003
<i>A. striata</i>	25%	<0.00008	<0.00008	<0.00008	<0.00008
	50%	ND	<0.00008	ND	ND
	75%	ND	ND	ND	ND

	Ctr	0.049±0.007	0.11±0.01	0.1±0.002	<0.00008
--	-----	-------------	-----------	-----------	----------

*.- Error estándar de la media. ND.- No Detectado

EFFECTO DE LOS EXTRACTOS DE AGAVES SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO CICLOPIAZÓNICO.

En lo que respecta a la inhibición de la producción de ácido ciclopiazónico (CPA), encontramos que solamente la cepa 1299 de *A. flavus*, fue capaz de sintetizar esta toxina (Tabla 17).

En este caso el extracto de *A. asperrima*, fue más efectivo en la inhibición de la síntesis de CPA. Alcanzando hasta un 87% de la reducción en la producción de CPA, al utilizar el 75% de la CMI, y se presentaron diferencias significativas ($p=0.05$) entre controles y tratamientos desde la utilización del 25% de la CMI, mientras que para el caso de *A. striata*, la inhibición significativa se presentó desde el 50% de la CMI y alcanzando una inhibición máxima del 83%, con el 75% de la CMI del extracto de *A. striata* (Tabla 17).

Tabla No 17.- Efecto de los extractos metanólicos de *A. asperrima* y *A. striata* sobre la producción de CPA por la cepa 1299 de *A. flavus*, en medio líquido.

	Ácido ciclopiazónico ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	
	<i>A. asperrima</i>	<i>A. striata</i>
Control	0.3701±0.04*	0.41±0.067
25%	0.2963±0.022	0.3255±0.08
50%	0.078±0.01	0.165±0.019
75%	0.0098±0.002	0.0143±0.01

* Error estándar de la media

DISCUSIÓN

Se ha estimado que existen entre 250,000 a 500,000 especies de plantas sobre la tierra (Borris, R. P., 1996). Además estas poseen una capacidad ilimitada de sintetizar substancias que pueden servir para defenderse en contra de microorganismos, insectos y herbívoros (Geissman, T.A., 1993; Schultes, R.E., 1978), se ha especulado que algunos de estos compuestos podrían ser utilizados por el hombre para inhibir el crecimiento de microorganismos (Cowan, M.M., 1999), incluyendo a algunos capaces de sintetizar toxinas nocivas para la salud, tanto del hombre como para los animales que los consumen (Gould, 1997). De toda esta diversidad vegetal, solo un pequeño porcentaje de estos se han utilizado como antimicrobianos (Moerman, D.E., 1996)

Científicos de diferentes áreas están investigando plantas por su posible utilidad como antimicrobianos y han encontrado muchos compuestos fitoquímicos con actividad antimicrobiana *in vitro* (Cowan, M.M., 1999). Todo esto ha ocasionado cambios importantes en las alternativas con las que se cuenta para proteger los bienes agrícolas de la contaminación por hongos productores de aflatoxinas, ya que estos compuestos se están vislumbrando como alternativas promisorias para el manejo integral de las infecciones provocadas por estos hongos. Es importante mencionar que el auge que tienen estos compuestos naturales es porque algunos de ellos se presume que son seguros para el medio ambiente y no afectan directamente al producto. (Smith, E., et al, 1996)

Se ha establecido desde hace tiempo que las micotoxinas pueden ser removidas de bienes agrícolas, mediante su inactivación o detoxificación ya sea por métodos físicos como la inactivación térmica e irradiación (Food and Agriculture organization, 1979) o por métodos químicos como extracción con solventes, degradaciones químicas, modificación de su toxicidad (Buchanan, R.L. and J.G. Ayres, 1988; Gosh, J. And Haggblom, 1985; Vorster, L.J., 1985) o incluso por métodos biológicos como

inactivación microbiana y fermentaciones (Pons, W.A., 1981). Sin embargo todos estos tratamientos tienen sus limitantes, ya que los productos no deben ser afectados en sus propiedades organolépticas ni en su valor nutritivo y comercial (Vorster, L.J., 1985; Suttajit. M. 1997). Los tratamientos químicos son de los mas utilizados, a pesar de que en muchas ocasiones aunque que transforman las aflatoxins en derivados no tóxicos, el producto a menudo se ve afectado en sus propiedades nutritivas (Mann, G.E., et al, 1970). Uno de los principales puntos en los que se fundamenta este trabajo, es la utilización de compuestos naturales que podrían ayudar a reducir o eliminar la cantidad de químicos que actualmente se utilizan (Bullerman, L.B. et al, 1977). Además los ensayos antimicrobianos se realizaron con extractos crudos, utilizando como solventes agua destilada, etanol y metanol. Para determinar el efecto antimicrobiano de los extractos empleamos la técnica de difusión en pozo en agar, tal como lo marca la literatura, ya que señala que la búsqueda inicial de compuestos antimicrobianos potenciales, se debe realizar ya sea a partir de los compuestos puros (Afolayan, A.J., et al, 1997; Batista, O., et al, 1994 y Klopoukh, L., et al 1997) extraídos mediante técnicas de separación o con extractos crudos realizados con diferentes solventes (Freiburghaus, F.R., et al, 1996; Rojas, A., et al, 1992 y Silva, O., et al, 1996). Se ha establecido además que para demostrar la actividad antimicrobiana de estos extractos, se emplea el método de difusión en pozo en agar (Navarro, V., et al, 1996) así como adaptaciones a estas técnicas, como la autobiografía (Mayr-Harting, A., et al, 1972).

Nuestros ensayos mostraron el mejor efecto antimicrobiano con los extractos metanólicos, en comparación con los otros solventes probados. Esto se puede explicar ya que se ha reportado que el metanol, extrae la mayor cantidad de compuestos que presentan actividades antimicrobianas. Además, la literatura menciona que el etanol es otro de los solventes que son muy utilizados en la extracción de compuestos antimicrobianos, en tanto que las extracciones acuosas, rara vez presentan actividad

antimicrobiana y si la presentaran son mas efectivos en contra de virus. (Zhang, Y., et al, 1997). Ocasionalmente las fracciones acuosas pueden contener compuestos antimicrobianos de interés, mas sin embargo en la mayoría de los casos son extraídos en mayor cantidad, al utilizar solventes menos polares como el metanol y el etanol. (Taylor, R.S.L., et al, 1996, Rao, K.V., et al, 1993, Eloff, J.L., 1998). Con respecto a esto Eloff en 1998, examinó una variedad de extractantes por su capacidad de solubilizar antimicrobianos provenientes de plantas, mencionando que los solventes mas utilizados eran el diclorometano, metanol, etanol y agua, encontrando que la mayoría de los compuestos activos no eran solubles en agua y que el metanol y etanol eran usados como solventes principales en muchos de los estudios de la reciente literatura.

Es también importante mencionar que cualquier parte de la planta puede contener componentes activos, ya sea raíces, hojas, tallos ó retoños, por ejemplo, el ginseng presenta sus saponinas y aceites esenciales solamente en las raíces, en tanto que el Eucalipto contiene aceites esenciales en sus hojas, y en el álamo balsámico encontramos componentes activos tanto en hojas, tallos y retoños (Thomson, W.A.R., 1978). Por lo anterior se ha recomendado realizar las extracciones separando las partes de la planta a analizar, como lo hicimos en este estudio, y no debemos olvidar que el estado fenológico de la planta así como la temporada de colecta influyen en la cantidad de compuestos activos encontrados en la planta (Cowan, M.M., 1999). En nuestro caso pudimos observar que el o los compuestos activos de los Agaves probados, se encontraban principalmente en las inflorescencias. Esto es comprensible debido a que el período de floración coincide con un incremento en el contenido de estos compuestos (Thompson, W.A.R., 1978). También encontramos actividad inhibitoria en el escapo, mas sin embargo en mucha menor cantidad, en tanto que las demás partes de las plantas analizadas no exhibieron actividad inhibitoria.

Nuestros resultados obtenidos en medio líquido (A & M) indicaron que el extracto metanólico que presentó mayor efecto inhibitorio del crecimiento de los hongos analizados, fue el de la inflorescencia de *A. asperiflora* con una CMI de 0.5 mg/ml a 2.0 mg/ml de acuerdo a la cepa probada. En el caso del extracto metanólico de la inflorescencia de *A. striata*, este presentó valores de CMI superiores a las del extracto de *A. asperiflora*, siendo de 1.0 a 2.0 mg/ml. Cuando analizamos los extractos de los escapos de ambas especies de Agaves encontramos que las CMI fueron mucho más elevadas, siendo de 15 mg/ml a 23 mg/ml. Los extractos metanólicos del escapo de *A. striata* obtuvieron CMI's que fueron de 20 a 30 mg/ml.

Las CMI obtenidas en condiciones simuladas de almacén fueron mucho mayores que aquellas observadas en medio líquido. En el caso del extracto de la inflorescencia de *A. asperiflora* encontramos que la CMI fue de 33 a 42 mg/ml. Para el caso de la inflorescencia de *A. striata* la CMI varió de 40 a 45 mg/ml. No se determinó la CMI de los extractos metanólicos de los escapos de ambas especies de Agaves debido a que fueron muy altas alcanzando niveles superiores a 60 mg/ml. Con respecto a esto se tienen reportes de que las CMI obtenidas en condiciones de simuladas de almacén suelen ser mucho mayores a las encontradas en medio líquido (Sánchez, C., 1999) como lo encontramos en este estudio, esto puede ser debido a que no existe una buena difusión de los compuestos activos en sustratos sólidos y probablemente a que el maíz es un sustrato que presenta todos los nutrientes para un mejor y adecuado desarrollo de los hongos, por lo que es mas difícil lograr su inhibición (Trenk, L.H. et al.).

Se ha reportado que las aflatoxinas son producidas principalmente por dos especies ubicuas de *Aspergillus* (<http://193.51.164.11/htdocs/Monographs/Vol56/09-afl.htm>). En nuestros ensayos las cepas 1273 y 1299 de *A. flavus* sólo sintetizaron las aflatoxinas B1 y B2 y no se detectaron las aflatoxinas G1 y G2. La cepa 148 de *A. parasiticus*, produjo las cuatro principales aflatoxinas B1, B2, G1 y G2. En esta cepa, la aflatoxina G1 fue la que se produjo en mayor cantidad (1.04 µg/ml), seguida por la B1

(0.87 µg/ml), la B2 (0.52 µg/ml) y por último la G2 (0.07 µg/ml). Esto coincide con lo reportado previamente al mencionar que la prevalencia de las aflatoxinas depende de la distribución geográfica y de la cepa productora, ya que *A. flavus* solo sintetiza las aflatoxinas B y *A. parasiticus* sintetiza las B y las G (3), (Martins, M.L., 1999; Horn, B.W., et al, 1999) tal como lo encontramos en este estudio.

En cuanto a la variabilidad en la producción de aflatoxinas por parte de *Aspergillus*, pueden ser atribuidas a las condiciones climáticas y a las prácticas agrícolas, que incrementan la susceptibilidad de plantas a la invasión por *A. flavus*. (Hill, R.A., et al, 1983; Jones, R.K., et al, 1981; Klich, M.A., 1987). Sin lugar a dudas, las variaciones en la síntesis de aflatoxinas *in vitro* y en condiciones simuladas de almacén, también dependen enormemente de la estandarización de las condiciones a las cuales el hongo es cultivado. Aunado a esto, se tiene suficiente referencia de que las poblaciones de los hongos productores de aflatoxinas, son extremadamente diversas genéticamente, por lo que varía considerablemente su capacidad de sintetizar las mismas (Horn, B.W., et al, 1996; Huang, X., et al, 1994; Lisker, N., et al, 1993; Richard, J.L., et al, 1992).

Cuando a las cepas fúngicas se les agregaron diferentes concentraciones de los extractos, se observó una reducción significativa en la síntesis de aflatoxinas (al agregar el 50 y 75% de la CMI principalmente). Establecimos que el grado de inhibición de la aflatoxina B1 fue del 75 y 96% al utilizar el 50 y 75 % de la CMI y para el caso de la aflatoxina B2, al agregar el 50% de la CMI se inhibió el 99.99% la síntesis de aflatoxinas, y consecuentemente a mayores concentraciones del extracto, no hubo detección de la misma. Con respecto al extracto de *A. striata*, la reducción de la producción de aflatoxina B1 al utilizar el 50% de la CMI fue de 99.98% y para la aflatoxina B2 la adición del 50% produjo una reducción del 90 al 99.7% (con el 75% de la CMI). Cuando se agregó extracto al 25% de la CMI, la disminución de la producción de aflatoxina B2 fue del 50%. Esto se explica ya que el efecto de una inhibición total o parcial del crecimiento o de la síntesis de aflatoxinas dependerá en

gran medida de la concentración a la que se encuentre el compuesto activo (Malo, L., 1977 ; Thompson, W.A.R., 1980)

Se ha mencionado que el CPA y las AFL's comúnmente se producen juntas en bienes agrícolas (Landsen, J.A., et al, 1983; Urano, T., et al, 1992). En nuestro estudio corroboramos esto cuando trabajamos con *A. flavus* 1299, la cual sintetizó en cantidades destacables tanto aflatoxinas como ácido ciclopiazónico. Sin embargo la cepa 1273 no se comportó igual. Algunos investigadores han mencionado que existe una correlación positiva entre la producción de CPA y de AFL's, pero como ya se mencionó, existe considerable variación en la síntesis de toxinas entre individuos (Horn, B.W., et al, 1996). Se tienen reportes de que aproximadamente el 12 % de las cepas aisladas en campo producen únicamente CPA, e incluso se han detectado diferencias significativas en la producción de AFL's y CPA, entre cepas aisladas de diferentes regiones (Dorner, J.W., 1998; Martins, M.L., 1999, Horn, B.W., et al, 1999). Así como también podemos encontrar cepas de *A. flavus* que coproducen ambas toxinas, solo una o ninguna de ellas (Horn, B.W., 1996; Huang, X, et al, 1994; Lisker, N., et al, 1993; Richard, J.L., et al, 1992).

El ácido ciclopiazónico es una toxina que no se produce por *A. parasiticus* (Finoli, C., et al, 1999; Luk, K.C., et al, 1977; Gqaleni, N., et al, 1996, Gallagher, R.T., et al, 1978), tal como se demostró en esta investigación, puesto que no fue detectada en nuestro estudio.

Este estudio es un argumento fuerte de que si un antimicrobiano natural es efectivo *in vitro* y en condiciones simuladas de almacén, pudiera llegar a ser una alternativa potencial para el control de este tipo de hongos. Estos extractos podrían ser sujetos a estudios de caracterización de compuestos activos, para realizar estudios de toxicidad subsecuentes *in vitro* y con animales de laboratorio, como una alternativa para el control de microorganismos dañinos.

CONCLUSIONES

Los extractos metanólicos de las inflorescencias de *Agave asperrima* y de *A. striata* fueron los que presentaron mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento y la síntesis de aflatoxinas.

Los extractos acuosos y alcohólicos de la raíz y de las hojas de los Agaves probados no presentaron efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las cepas de *Aspergillus*.

Se presentaron diferencias significativas en la concentración mínima inhibitoria exhibida en medio líquido comparada con la CMI obtenida en maíz (condiciones simuladas de almacén).

Las concentraciones probadas con 50 y 75 % de la CMI son consideradas dosis subletales y a pesar de esto afectaron significativamente el crecimiento de los hongos y la síntesis de sus toxinas.

El extracto metanólico de *A. striata* presentó mayor efecto inhibitorio sobre la síntesis de toxinas, mientras que el de *A. asperrima* lo hizo en contra del crecimiento.

LITERATURA CITADA:

- Aderiye, B.I., S.K. Ogundana, S.A. Adesanya and M.F. Roberts. 1996. Antifungal properties of Yam (*Dioscorea alata*) peel extract. *Folia Microbiol.* 41(5): 407-412.
- Alade, P.I. and O.N. Irobi. 1993. Antimicrobial activities of crude leaf extracts of *Acalypha wilkesiana*. *J. Ethnopharmacol.* 39(3):171-174.
- Alvarez, R.M.A., M. Carvajal, M. Lisker-Melman, F. Rojo and I. Méndez. 1998. Aflatoxin B1 in urine of humans with chronic B and C hepatitis and cirrosis in México. *Mycotoxins and Phycotoxins – Developments in Chemistry, Toxicology and Food Safety*. Ed. By M. Miraglia, USA pp. 181-185.
- Afolayan, A.J., and J.J.M. Meyer. 1997. The antimicrobial activity of 3,5,7-trihydroxyflavone isolated from the shoots of *helicrysum aureonitens*. *J. Ethnopharmacol.* 57:177-181.
- Anderson, H.W., E.W. Nehring and W.R. Wichser. 1996. Aflatoxin contamination of corn in the field. *J. Agric. Foos Chem.* 23:775-782.
- Asao, T., G. Buchi, M.M. Abdel-Kadel, S.B. Chang, E.L. Wick and G.N. Wogan, 1965. "The structures of Aflatoxins B₁ and G₁". *J. Am. Chem. Soc.* 87: 882 - 886.
- Awuah, R.T. and K.A. Kpodo. 1996. High incidence of *Aspergillus flavus* and aflatoxins in stored groundnut in Ghana and the use of a microbial assay to assess the inhibitory effects of plant extracts on aflatoxin synthesis. *Mycopathologia.* 134(2):109-114.
- Bagy, M.M.K., A.Y. Abdel-Mayek, A.A. El-Sahanawany and G.A. Morsy. 1997. Studies on fungy associated with laboratory animal "golden hamster" and antibiotic effects of Aloe Sap, Garlic extract and Onion oil. *Medical Journal.* 10(1)

Balacs, T. 1993. Research reports. The international journal of aromatherapy. Vol 5.

No 4

Balacs, T. 1992. "May Chang". The international journal of aromatherapy. Vol 4. No 3.

P.25

Balacs, T. 1991. Research reports. Fungal inhibition. The international journal of aromatherapy. Vol 3. No 4. p. 30.

Balanchandran, C. and K.R. Parthasarthy, 1995. " Occurrence of Cyclopiazonic Acid in Feeds and Feed stuff in Tamil Nadu, India". Appl. Environ Microbiol. 104: 177 – 180

Bankole, S.A. 1997. Effect of essential oils two nigerian medicinal plants (*Azadirachta indica* and *Morinda lucida*) on growth and aflatoxin B₁ production in maize grain by a toxigenic *Aspergillus flavus*. Lett. Appl. Microbiol. 24: 190-192.

Batista, O., A. Duarte, J. Nascimento and M.F. and M.F. Simones. 1994. Structure and antimicrobial activity of diterpenes from the roots of *Platranthus hereroensis*. J. Nat. Prod. 57:858-861.

Beuchat, L.R. and D.A., Golden. 1989. Antimicrobials occurring naturally in foods. Food technol. 43(1):134-142.

Bilgrami, K.S., K.K. Shina and A.K. Shina. 1992. Inhibition of aflatoxin productionm and growth of *Aspergillus flavus* by eugenol and onion and garlic extracts. Indian J. Med. Res. 96:171-175.

Buchanan, R.L. and J.G. Ayres. 1979. Effect of sodium acetate on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999. J. Food Sci. 128-132.

Buchanan R.L. and A.J. Shepherd. 1981. Inhibition of *Aspergillus parasiticus* by Thymol. J. of Food Science. 46:976-977.

- Bullerman, L.B., F.Y. Lieu and S.A. Seier. 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils. Cinnamic aldehyde and eugenol. *J. Food Sci.*. 42: 1107-1109.
- Buttler, L.G. 1998. Effects of condensed tannin on animal nutrition, p 553. IN R.W. hemingway and J.J. Karchesy (ed). Chemistry and significanse of condensed tannins. Plenum Press, New York, N.Y.
- Caceres, A., B. López, X. Juárez, J. Aguila and S. García. 1993. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 2 Evaluation of antifungal activity of American plants. *J. Ethnopharmacol.* 40(3):207-213.
- Carvajal, M. and G. Arollo. 1997. Management of aflatoxin contaminated maize in Tamaulipas, México. *J. Agric. and Food Chem.* 45:1301-1305.
- Conner, D.E. 1993. Naturaly ocurring compounds. 2 ed. IN Micheal Davidson and Alfred Larry Branen Antimicrobials in Food Marcel Dekker. New York
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiol Rev.* 12(4):564-582.
- Cullen, J.M., M.S. Wilson, W.M. Hagler, J.F. Ort and R.J. Cole. 1988. Histopathologic lesions in broiler chicks given cyclopiazonic acid orally. *Am J. Vet. Res.* 49:728-732.
- Chang-Yen, I. and K. Bidasee, 1990. "Improved Spectrophotometric Determination of Cyclopiazonic Acid in Poultry Feed and Corn". *J. A.O.A.C.* 73(2): 257 - 259.
- Cvetnic, Z., and S. Pepeljnjak. 1998. Production od cyclopiazonic acid by aflatoxigenic and non-aflatoxigenic strains of *Aspergillus flavus*.
- Chu, F.S., 1991. Mycotoxins: food contamination, mechanism, carcinogenetic potential and preventive measures. *Mutation research* 259:291-309.
- Dorner, J.W., R.J. Cole and U.L. Diener, 1984. "The Relationship of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* with Reference to Production of Aflatoxins and Cyclopiazonic Acid". *Mycopathologia.* 87: 13-15.

- Dorner, J.W., R.J. Cole, T.H. Sanders and P.D. Blankenship. 1998. Effect of inoculum rate of biological control agents on preharvest aflatoxin contamination of peanuts. *Biol. Control.* 12:171-176.
- Duncan, H.E. and W.M. Hagler. 1997. Aflatoxins and other mycotoxins. Pest Management.
- Eaton, D.L. and J.D. Groopman. 1994. The toxicology of aflatoxins. Academic press, New York. Pp 383-426.
- Edlefesen, M. and M.S., Brewer. 2002. Aflatoxins. The national food safety database.
<http://foodsafety.ifas.ufl.edu/jl/jl099.htm>
- Ellis, W.O., J.P. Smith, B.K. Simpson and J.H. Oldman, 1991. "Aflatoxins in Food: Occurrence, Biosynthesis, Effects on Organisms, Detection and Methods of Control". *Critical Rev in Food Sci. and Nutr.* 30(3): 403 - 439
- El-Maraghy, S.S.M. 1995. Effect of some spices as preservatives for storage of lentil (*Lens esculenta L.*) seeds. *Folia Microbiol.* 40(5): 490-492
- El-Shazly, A., A.M. Ateya and M. Wink. 2001. Quinolizidine alkaloid profiles of *Lupinus varius*, *L. albus albus*, *L. hartwegii* and *L. densiflorus*. *Z. Naturforsch.* 56(1-2):21-30.
- Eloff, J.N. 1998. Which extractant could be used for the screening of isolation of antimicrobial components from plants? *J. Etnopharmacol.* 60:1-8.
- Farag, R.S., Z.Y. Daw and S.H. Abo-Raya. 1989, Influence of some spice essential oils on *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. *J. Food Sci.* 54(1): 74-76.
- Farr, D.F., G.F. Billis, G.P. Chamuris and A.Y. Rossman, 1989. " Fungi on Plants and Plant Products in the United States St. Paul M.N." APS Press 578.
- Fan, J.J. and J.H. Chen. 1999. Inhibition of aflatoxin-producing fungi by welsh onion extracts. *J. Food Prot.* 62(4):414-417.

- Finley, J.W., S.F. Robinson and D.J. Armstrong. 1992. Food safety assesmnt. American Chemical Society, Washington, D.C. pp. 261-275.
- Finoli, C., A. Vecchio, A. Galli and L. Franzetti. 1999. Production of cyclopiazonic acid by molds isolates from Taleggio cheese. *J. Food Prot.* 62(10):1198-1202.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1979. Recomended practice for prevention of mycotoxins in food, feed and their products. Rome. 4-36.
- Freiburghaus, F., R. Kaminsky, M.H.H. Nkunya and R. Burn. 1996. Evaluation of African medicinal plants for their in vitro trypanocidal activity. *J. Etnopharmacol.* 55:1-11.
- Gqaleni, N., J.E. Smith, J. Lacey. 1996. Co-production of aflatoxins and cyclopiazonic acid in isolates of *Aspergillus flavus*. *Food Addit. Contam.* 13(6):677-685.
- Gallagher R.T., J.L. Richard, H.M. Stahr and R.J. Cole, 1978. "Ciclopiazonic Acid Production by Aflatoxigenic and Non-aflatoxigenic Strains of *Aspergillus flavus*." *Mycopathologia.* 66: 31-36.
- Geissman, T.A. 1963. Flavonoid compounds, tanins,linins and related compounds, p.265. IN M. Florkin and E.H. Stotz (ed). Pyrole pigments, isoprenoid compounds and phenolic plant constituent, vol. 9. Elsevier, New York, N.Y.
- Gendolff, E.H., F.S. Chu and .J. Leonard. 1992. Variation in regulation of aflatoxin bioeynthesis amog isolates of *Aspergillus flavus*. *Experientia.* 48(1):84-87.
- Goldblatt, L.A. 1969. Aflatoxin. Academic Press. New York. Pp. 1-40.
- Gosh, J. and P. Hagglom. 1985. Effect of sublethal concentration of propionic or butiric acid on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. *J. Food Microbyol.* 2, 323-330.
- Gould, G.W. 1995. Industry perspectives on the use of natural antimicrobials and inhibitors for food applications. *J. Food Protect.* 82-86

- Gourama, H. and L.B. Bullerman. 1987. Effect of oleuropein on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. Department of Food Science and Technology University of Nebraska, Lincoln.
- Groopman, J.D., L.G. Cain and T.W. Kensler. 1988. Aflatoxin exposure in human populations: measurements and relationship to cancer. *Toxicol* 19, 113.
- Gueldner, R.C., D.M. Wilson and A.R. Heidt. 1985. Volatile compounds inhibiting *Aspergillus flavus*. *J. Agric. Food Chem.* 33:411-413.
- Heathcote, J.G. and J.R. Hibbert. 1978. Aflatoxins: chemical and biological aspect. Elsevier, New York. pp. 173-186.
- Hamilton, P.B. 1971. A natural and extremely severe occurrence of aflatoxicosis in laying hens. *Poultri Sci.* 50:1880-1882.
- Holcomb, M., O.M. Wilson, M.W. Turkesses and H.C. Thompson, 1992. Determination of aflatoxins in food products by chromatography. *J. Chromatography*. 624:341-352.
- Holzapfel, C.W., 1968. "The Isolation and Structure of Cyclopiazonic Acid, a Toxic Metabolite of *Penicillium cyclosporum* Westling". *Tetrahedron*. 24: 2101 - 2119.
- Holmquist, G.U., H.W. Walker and H.M. Stahr. 1983. Influencie of temperature, pH, water activity and antifungal agents on growth of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. *J. Food Sci.* 48: 778-782.
- Horn, B.W. and J.W. Dorner. 1999. Regional differences in production of aflatoxin B1 and cyclopiazonic acid by sil isolates of *Aspergillus flavus* along a transect within the Unites States. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(4):1444-1449.
- Horn, B.W., R.L. Greene, V.S. Sobolev, J.W. Dorner, J.H. Powell and R.C. Layton. 1996. Association of morphology and mycotoxin production with vegetative compatibility groups in *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* and *A. tamarii*. *Mycologia*. 88:574-587.

- Hsu, I.C., R.A. Metcalf and T. Sun. 1991. Mutational hotspot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas. *Nature*. 350:427-428.
- Hill, R.A., P.D. Blankenship, R.J. Cole and T.H Sanders. 1983. Effects of soil moisture and temperature on preharvest onvasion of peanuts by the *Aspergillus* *flavus* group and subsequent aflatoxin development. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:628-633.
- Hitokoto, H., S. Morozumi., T. Wauke., S. Sakay and H. Kurata. 1980. Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi. *Appl. and Environ. Microbiol.* Vol 812-822.
- Huang, X.- J.W. Dorner and F.S. Chu. 1994. Production of aflatoxin and cyclopiazonic acid by various aspergilli: an ELISA analysis. *Mycotox. Res.* 10:101-106.
- Jarvis, B. 1971. Factors affecting the production of mycotoxins. *J. Appl. Bact.* 34(1): 199-213.
- Jayaprakasha, G.K., P.S. Negi, C. Anandharamakrishnan and K.K. Sakariah. Chemical composition of tumeric oil-a byproduct from tumeric oleoresin industry and its inhibitory activity against different fungi. *Z. Naturforsch.* 56(1-2):40-44.
- Jones, R.K., H.E. Duncan and P.B. Hamilton. 1981. Planting date, harvest date, and irrigation effects on infection and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in field corn. *Phytopathology* 71:810-816.
- Jaskiewics, K., P.M. Close, P.G. Thiel and R.J. Cole, 1988. "Preliminary Studies on Toxic Effects of Cyclopiazonic Acid Alone and in Combination with Aflatoxin B₁ in Non-Human Primates". *Toxicology*. 52: 297 - 307.
- Foster, P.L. and W.A. Rosche. 2001. Aflatoxins. *Proceedings of the academy of sciences, USA* 80:2695-2698.

- Kandil, O., N.M. Radwan, A.B. Hassan, A.M.M. Amer, H.A. El-Banna and W.M.M. Amer. 1994 Extracts and fractions of *Thymus capitatus* exhibit antimicrobial activities Journal of Ethnopharmacology 44: 19-24.
- Kenneth, A.V., W.P. Norred, D.M. Hinton, R.J. Cole and L.W. Dorner. Subchronic oral toxicity of cyclopiazonic acid (CPA) in male Sprague-Dawley rats. Am. J. Vet. Res. 11-18
- Khera, K.E., R.J. Cole, C. Whalen and J.W. Dorner. 1985. Embryotoxicity study on cyclopiazinic acid in mice. Contam. Toxicol. 34:423-426.
- Kirmizigül, S., H. Anil, F. Uçar and K. Akdemir. 1996 Antimicrobial and antifungal activities of three new triterpenoid glycosides. Phytotherapy research 10:274-276.
- Klopoukh, L., S. Siddiqi, M. warns and L. To. 1997. Growth inhibition of *Mycobacterium chelonae* and *Mycobacterium marinum* by plant compounds, abstr. A-199. IN Abstracts of the 97th General Meeting of the American Society for microbiology 1997.
- Klich, M.A. 1987. Relation of plant water potential at flowering to subsequent cottonseed infection by *Aspergillus flavus*. Phytopathology. 77:739-741.
- Landsen, J.A. and J.I. Davidson. 1983. Ocurrence of cyclopiazonic acid in peanuts. Appl. Environ. Microbiol. 45:766-769.
- Landsen, J.A., 1984. Liquid chromatography analisis system for Cyclopiazonic acid in peanuts. J.Assoc. Off. Anal. Chem. 67(4): 728-731.
- Lee, L.S., F.W. Parrish and T.J. Jacks. 1986. Substrate depletion during formation of aflatoxin and Kojik acid on corn inoculated with *Aspergillus flavus*. FALTA. 93: 105-107.
- Leistner, L. and J.I. Pitt, 1977. "Miscellaneous *Penicillium* Toxins". In Micotoxins in Human and Animal Health. Eds. J.V. Rodricks, C.W. Hesseltine and M.A. Mehlman. Park Forest South, III.: Pathotox. 639 - 653.

- Lillehoj, E.B., A. Ciegler and R.W., Detry. 1970. Fungal Toxins. Toxicol 2:1
- Lisker, N., R. Michaeli and Z.R. Frank. 1993. Mycotoxicogenic potential of *Aspergillus flavus* strains isolated from groundnuts growing in Israel. J. Environ. Qual. 9:691-694.
- Lomax. L.G., R.J. Cole and J.W. Dorner. 1984. The toxicity of cyclopiazonic acid in weaned pigs. J. athol. 21:418-424.
- Luk, K.C., B. Kobbe and J.M. Townsend, 1977. " Production of Cyclopiazonic Acid by *Aspergillus flavus* Link". Appl. Environ Microbiol. 33: 211 - 212.
- Mabrouk, S.S. and N.M. El-Shayeb. 1980. Inhibition of aflatoxin formation by some spices. Lebensm Unters Forsch. 171(5):344-347.
- Mahasneh, A.M. and A.A. El-Oqlah. 1999. Antimicrobial activity of extracts of herbal plants used in the traditional medicine of Jordan. J. Ethnopharmacol. 64(3):271-276.
- Mahmoud, A.L. 1994. Antifungal action and antiaflatoxigenic properties of some essential oil constituents. Lett. Appl. Microbiol. 19(2):110-113.
- Mahmoud, A.L. 1999. Inhibition of growth and aflatoxin biosynthesis of *Aspergillus flavus* by extracts of some Egyptian plants. Lett. Appl. Microbiol. 29(5):334-336.
- Malo,L.A., S.M.Alzamora and A.Argaiz. 1997. Effect of vanillin concentration, pH, and incubation temperature on *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceous* and *Aspergillus parasiticus* growth. Food Microbiol 14: 117-124
- Mann, G.E., L.P. Codifier, .K. Gardner and F.G. Dollear. 1968. Reductions of aflatoxin levels in cottonseed and peanut meals by ozonization. J. Am. Oil. Chem. Soc. 45:93.
- Mallozzi. M.A.B., B. Correa, M. Haraguchi and F. Brignani. 1996. Efect of flavonoids on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production. Microbiol. 27:161-165.

- March, C., I. Sanz, and E.P. Yufera. 1991. Antimicrobial activities on mediterranean plants. *Zentralbl. Microbiol.* 146:291-295
- Martins, M.L. and H.M. Martins. 1999. Natural and in vitro coproduction of cyclopiazonic acid and aflatoxins. *J. Food Prot.* 62(3):292-294.
- Masood, A., J.V.V. Dogra and A.K. Jha. 1994. The influence of colouring and pungent anents of red Chilli (*Capsicum annum*) on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. *Letters in Applied Microbiology.* 18, 184-186.
- Mayr-harting, A. and A. Hedges and Berkely. 1972. Methods for studing bacetriocins. Academic Press, Inc. New York, N.Y.
- McCutcheon, A.R., S.M. Ellis, R.E.W. Hancock and G.H.N. Towers. 1994. Antifungal screening of medicinal plants of British Columbian native peoples. *Journal of Ethnopharmacology* 44:157-169
- McMillan. W.W., D.M. Wilson and N.W. Widstrom. 1985. Aflatoxin contamination of preharvest corn in Georgia: a six year study of insect damage and visible *Aspergillus flavus*. *J. Environ. Qual.* 14:200.
- Miller, J.D., 1996, Micotoxins. IN K.F. Cardwell (ed). Proceedings of the workshop on mycotoxins in foods in Africa, Nov. 6-10, Cotonou, Benin. p. 18-22 .
- Mishra, A.K. and N.K. Dubey. 1990. Fungitoxic properties of *Prunus persica* oil. *Hindustan Antibiot Bull.* 32(3):91-93.
- Mishra, A.K. and N.K. Dubey. 1994. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Appl. Environ. Microbiol.* 60(4):1101-1105.
- Moerman, D.E. 1996. An analysis of the food plants of native North America. *J. Etnopharmacol.* 52:1-22.
- Montes-Belmont, R., M. Carvajal, R.F. Brito and I. Mendez. 1997. Extractos sólidos, acuosos y hexánicos de plantas para el combate de *Aspergillus flavus* Link en maíz. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 15:26-30.

- Montes-Belmont, R., and M. Carvajal. 1997. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. *Journal of Food Protection.* 61(5):616-619.
- Morrisey, R.E.; R.J. Cole and J.W. Dorner, 1984. "The effects of cyclopiazonic acid on pregnant and fetal development of Fischer Rats". *J. of Tox. Environ. Health.* 14: 585 - 594.
- Morrisey, R.E., W.P. Norred, R.J. Cole and J. Dorner. Toxicity of the mycotoxin, cyclopiazonic acid to sprague-dawley rats. 1985. *Toxicol and Appl. Pharmacol.* 77:94-107.
- Navarro, V., M.L. Villarreal, G. Rojas, and X. Lozoya. 196 Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. *J. Etnopharmacol.* 53:143-147.
- Nichols. T. and Everet. 1983. Economic effects of aflatoxin in corn. P:67-72. IN Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in corn. Diener. U.L., Asquit, R.L. and Dickens, J.W. Eds. S.. Coop. Series Bull. 279. Auburn Univ. 122 pp.
- Nishe, K., R.J. Cole and J.W. Dorner. 1985. Toxicity and neuropharmacology of cyclopiazonic acid. *Toxicol.* 23(9):831-839.
- Nuehring, L.P., G.N. Rowland, L.E. Harrison, E.J. Cole and J.W. Dorner. 1985. Cyclopiazonic acid mycotoxicosis in the canine. *Am. J. Vet. Res.* In Press.
- Oh, K.B., I.M. Chang, K.J. Hwang and W. Mar. 2000. Detection of antifungal activity in *Portulaca oleracea* by a single-cell bioassay system. *Phytother. Res.* 14(5):329-332.
- Ohmomo, S., M. Sugita and M Abe. 1973. Isolation of cyclopiazonic acid, cyclopiazinic acid imine and bis-secodehydrocyclopiazonic acid from cultures of *Aspergillus versicolor*. *J. Agric. Chem. Soc. Japan.* 57:57.
- Onawunmi, G.O. 1989. Evaluation of the antifungal activity of lemongras oil. *Int. J. Of Crude Drug Res.* 27(2):121-126.

- Paster, N., M. Menasherov, U. Ravid and B. Juven. 1995. Antifungal activity of oregano and Thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. 58(1): 81-85
- Paster, N., B.J. Juven, H. Harshemerh. 1988. Antimicrobial activity and inhibiton of aflatoxin B1 formation by olive plant tissue constituents. J. Appl. Bacteriol. 64(4):293-297.
- Patkar, K.L., C.M. Usha, H.S. Shetty, N. Paster and J. Lacey. 1993. Effect of spice essential oils on growth and aflatoxin B1 production by *Aspergillus flavus*. 17:49-51.
- Paster. G.A., E.J. Kamprath and C.R. Adkins. 1989. Increasesd aflatoxin in nitrogen-stressed corn. Plant Dis. 73:556.
- Peña, D.S. 2001. Algunas consideraciones sobre la contaminación por micotoxinas en alimentos agropecuarios en México y en el mundo. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. División ciencias Biológicas y de la salud. Depatramento de Producción Agrícola y Animal.
- Petr, J. and J. Rozinek, 1997. "Cyclopiazonic acid Induces Accelerated Progress of Meiosis in Pig Oocytes". Zygote 5 (3): 193 - 205.
- Pons, W.A., A.F. Cucullu, L.S. Lee, H.J. Janssen and L.A. Goldblatt. 1981. Kinetic study of acid catalyzed conversion of aflatoxin B1 and G1 to B2a and G2a. J. Am. Oil. Chem. Soc. 58. 995A-1002A.
- Purcahase. I.F.T. 1971. The acute toxicity of the mycotoxin cyclopiazonic acid to rats. Toxicol Appl. Parmacol. 18:114-123.
- Prasad, G., S.S. Sahay and A. Masood. 1994. Inhibition in aflatoxin biosynthesis by the extract of *Amorphophallus campanulatus* (OL) and calcium oxalate. Letters in Applied Microbiology. 18:203-205.

- Rao, B.L., and A. Husain. 1985. Presence of cyclopiazonic acid in kodo millet (*Paspalum scrobiculatum*) causing Kodua poisoning in men and its production by associated fungi. *Mycopathologia*. 89:177-180.
- Rao, K.V., K. Sreeramulu, D. Gunasekar and D. Ramesh. 1993. Two new sesquiterpene lactones from *Ceiba pentandra*. *J. Nat. Prod.* 56:2041-2045.
- Rathinavelu, A. and E.R.B. Shanmugasundaram, 1984. "Simple Colorimetric Estimation of Cyclopiazonic Acid in Contaminated Food and Feeds". *J. A.O.A.C.* 67(1): 38 - 40.
- Rensburg, S.J. 1984. Subacute toxicity of the micotoxin cyclopiazonic acid. *Chem. Toxic.* 22(12):993-998.
- Richard, J.L. and R.T. Gallagher. 1979. Multiple toxin production by an isolate of *Aspergillus flavus*. *Mycophatologia*. 67(3):161-163.
- Richard, J.L., D. Bhatnagar, S. Peterson and G. Sandor. 1992. Assessment of aflatoxin and cyclopiazonic acid production by *Aspergillus flavus* isolates from Hungary. *Mycopathologia*. 120:183-188.
- Rodríguez-Amaya, D.B. 1999. Research on mycotoxinas in Latin America. The world of food asience.
- Rojas, A., L. Hernandez, R. Pereda-Miranda, R. Mata. 1992. Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products for Mexican medicinal plants. *J. Etnopharmacol.* 35:275-283.
- Saxena, J., C.S. Mathela. 1996. Antifungal activity of new compounds from *Nepeta leucophylla* and *Nepeta clarkei*. *Appl. Environ. Microbiol.* 62(2):702-704.
- Schultes, R.E. 1978. The kingdom of plants, p. 208 IN W.A.R. Thomson (ed). Medicines from the Earth. McGraw-Hill Book Co. New York. N.Y.
- Sergeant, K., A. Sheridan, J. O'Kelly and R.B.A. Carnaghan, 1961. "Toxicity Associated with Certain Samples of Ground Nuts". *Nature (London)* 192: 1095 - 1097.

- Shank, R.C., G.N. Wogan and J.E., Gordon. 1972. Dietary aflatoxin and human liver cancer (III). Field survey of rural Thai families for ingested aflatoxin. *Food Cosmet. Toxicol.* 10,71.
- Shelef, L.A., 1984. Antimicrobials effect of spices. *J. Food Safety.* 6:29-44.
- Silva, O., A. Duarte, J. Cabrita, M. Pimentel, A. Diniz and E. Gomez. 1996. Antimicrobial activity of Guinea-Bissau traditional remedies. *J. Ethnopharmacol.* 55:55-59.
- Sinha, K.K. 1987. Aflatoxin contamination of maize in flooded areas of Bhagalpur, India. *Applied and Environmental Microbiology* 53(6): 1391-1393.
- Singh, M., S. Srivastava and R.P. Srivastava. 1995. Effect of japanese mint (*Mentha arvensis*) oil as fumigant on stored sorghum: physical characteristics, sensory quality and germination. *Int. Food Sci. Nutr.* 46(3):225-228.
- Singh, H.N.P., M.M. Prasad and K.K. Sinha. 1993. Efficacy of leaf extracts of some medicinal plants against disease development in banana. *Letters in Applied Microbiology* 17:269-271.
- Seinivasan, D., S. Nathan, T. Suresh, P.P. Lakshmana. 2001. Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. *J. Ethnopharmacol.* 74(3):217-220.
- Taylor, R.S.L., F. Edel, N.P. Manandhar and G.H.N. Towers. 1996. antimicrobial activities of sourthem Nepalese medicinal plants. *J. Etnopharmacol.* 50:97-102.
- Thomson, W.A.R. 1978. Medicines of the earth. McGarw-Hill Book Co. Maidenhead, United Kindom.
- Thomson, W.A.R. 1980. Guia práctica ilustrada de plantas medicinales. Editorial BLUME. pags. 11, 151-159.
- Urano, T., M.W. Trucksess, R.W Beaver, D.M. Wilson, J.W. Dorner and F.E. Dowel. 1992. Co-occurrence of cyclopiazonic acid and aflatoxins in corn and peanuts. *J. Off. Anal. Chem. Int.* 75:838-841.

- US Food and Drug Administration. 2001. center for food safety and aplieed nutrition,
<http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chapt41.html>.
- Varma, J. and N.K. Dubey. 2001. Efficacy of essential oils of *Caesulia axillaris* and *Mentha arvensis* against some storage pests causing biodeterioration of food commodities. *Int. J. Food Microbiol.* 68(3):207-210.
- Vincelli, P. 1996. Aflatoxins in corn. Cooperative extensions service. ID-59. <http://>:
- Vincelli, P. and G. Parker. 1995. Micotoxins in corn produced by fusarium fungi. ID-121.
- Voster, L.J. 1985. E'tudes sur la de' detoxification des arachides contaminees par l'aflatoxine et destinees a l'huielie. *Rev. Franc. Corps. Res.*, 13:7
- Wisniewski, M.E. and C.L. Wilson . 1992. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: Recent advances. Vol 27(2).
- Widaistuti, R., R. Maryam, B.J. Blaney and S. Salfina, 1988. " Cyclopiazonic Acid in combination with Aflatoxins, Zearalenone and Ochratoxin A in Indonesian Corn. *Mycopathologia.* 104: 153-156.
- Widstrom, D.M., M.E. Walker and G.J. Gascho. 1989. Some effects of mineral nutrition on aflatoxin contamination of corn and peanut in soliborne plant apthogens. Management with Macro and Microelements, APS press. St. Paul. 217.
- Wogan, G.N. 1992. Aflatoxin as risk factor for hepatocellular carcinoma in humans. *Cancer Res.* 52(7):2114-2118.
- Woloshuk, C.P., J.R. Cavaleto and T.E. Cleveland. 1996. Inducers of aflatoxin biosynthesis from colonized maize kernels ars generated by an amylase activity from *Aspergillus flavus*. *Phytopathology* 87(2):164-169.
- Yin, M.C. and W.S. Cheng. 1998. Inhibition of *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* by some herbs and spices. *J. Food Protec.* 61(1):123-125.

- Yin, M.C. and S.M. Tsao. 1999. Inhibitory effect of seven Allium plants upon three Aspergillus species. *Int. J. Food. Microbiol.* 49(2):49-56.
- Zaika,L.L. and R.L.Buchanan. 1987. Review of compounds affecting the biosynthesis or bioregulation of aflatoxin. *J. Food. Protect.* 50(8): 691-708.
- Zhang, Y. and K. Lewis. 1997. fabatins: new antimicrobial plant peptides. *FEMS Microbiol. Lett.* 149:59-64.



