



Evaluación *in vitro* de inhibidores contra hongos micotoxigénicos del maíz

Marco Maidana-Ojeda

marcomo1987@gmail.com

Universidad Autónoma Chapingo
Chapingo, México

Marcelo Acosta-Ramos

acostam14@gmail.com

Universidad Autónoma Chapingo
Chapingo, México

María Graciela-Cabrera

macundom@yahoo.com.ar

Universidad Nacional del Nordeste
Corrientes, Argentina

Lidia Quintana-Viedma

lviedmaq@gmail.com

Universidad Nacional de Itapúa
Encarnación, Paraguay

Guillermo Enciso-Maldonado

gui77eenciso@gmail.com

Centro de Desarrollo e Innovación Tecnológica
Hohenau, Paraguay

Yerutí Mongelós-Franco

yeruti91@gmail.com

Centro de Desarrollo e Innovación Tecnológica
Hohenau, Paraguay

RESUMEN

Los inhibidores fúngicos son alternativas para el manejo de hongos micotoxigénicos, como *Aspergillus* sp. y *Fusarium* sp. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto *in vitro* del extracto de *Larrea tridentata* 95%, azadiractina 85% y la mezcla de ácido ascórbico 1% + ácido cítrico 0,25% + ácido láctico 0,25%, sobre *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus* y *Fusarium verticillioides*. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar, donde los tratamientos fueron concentraciones de 0, 1; 10; 100; 1.000 y 10.000 ppm de los inhibidores extracto de *Larrea tridentata* 95% y azadiractina 85%, y concentraciones de

0; 1; 10; 100 y 1.000 del inhibidor conformado por la mezcla de ácidos, cada experimento con 4 repeticiones, y se determinó el crecimiento radial e inhibición micelial. La mezcla de ácido ascórbico 1% + ácido cítrico 0,25% + ácido láctico 0,25% a 1.000 ppm inhibió el 100% el crecimiento de, *A. flavus*, *A. fumigatus* y *F. verticillioides*, mientras el extracto de *Larrea tridentata* 95% y azadiractina 85% produjeron la mayor inhibición en *A. fumigatus*, con 74% y 54%, respectivamente, en la concentración de 10.000 ppm. El extracto de *Larrea tridentata* 95% ocasionó un 45% de inhibición micelial en *A. flavus* y 61% en *F. verticillioides*.

Palabras clave: inhibidores; hongos micotoxigénicos; *aspergillus flavus*; *aspergillus fumigatus*; *fusarium verticillioides*.

In vitro evaluation of inhibitors against mycotoxigenic fungi of corn

ABSTRACT

Fungal inhibitors are alternatives for the management of mycotoxigenic fungi, such as *Aspergillus* sp. and *Fusarium* sp. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* effect of the *Larrea tridentata* 95% extract, azadirachtin 85% and the mixture of ascorbic acid 1% + citric acid 0.25% + lactic acid 0.25%, on *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus* and *Fusarium verticillioides*. A completely randomized experimental design was applied, where the treatments were concentrations of 0.1; 10; 100; 1,000 and 10,000 ppm of the inhibitors *Larrea tridentata* 95% extract and azadirachtin 85%, and concentrations of 0; 1; 10; 100 and 1,000 of the inhibitor formed by the mixture of acids, each experiment with 4 repetitions, the radial growth and mycelial inhibition were determined. The mixture of 1% ascorbic acid + 0.25% citric acid + 0.25% lactic acid at 1,000 ppm inhibited 100% growth of *A. flavus*, *A. fumigatus* and *F. verticillioides*, while the *Larrea tridentata* 95% extract and azadirachtin 85% produced the highest inhibition in *A. fumigatus*, with 74% and 54%, respectively, at the 10,000 ppm concentration. The 95% *Larrea tridentata* extract caused 45% mycelial inhibition in *A. flavus* and 61% in *F. verticillioides*.

Keywords: fungal inhibitors; mycotoxigenic fungi; *aspergillus flavus*, *aspergillus fumigatus*; *fusarium verticillioides*.

Artículo recibido: 03 marzo 2022

Aceptado para publicación: 20 marzo 2022

Correspondencia: yeruti91@gmail.com

Conflictos de Interés: Ninguna que declarar

1. INTRODUCCIÓN

Las micotoxinas son metabolitos fúngicos primarios y secundarios que poseen efectos inmunosupresores, carcinogénicos, mutagénicos y teratogénicos, y se caracterizan por presentar una acción rápida de intoxicación y una acción lenta de cancerización (Cabañez 2000). La presencia de micotoxinas en los vegetales puede deberse a varios factores, como la infección de la planta en el campo por hongos fitopatógenos, la colonización y crecimiento por hongos saprófitos, patógenos de postcosecha sobre frutos o granos almacenados, o el desarrollo fúngico de los saprófitos durante el almacenamiento de productos procesados (Bennett y Klich 2003; Chulze 2010).

En la producción de micotoxinas se destacan tres géneros fúngicos, que pueden ser asociados con micotoxinas específicas. Los respectivos géneros fúngicos y micotoxinas son: *Aspergillus*, que comúnmente produce aflatoxinas del tipo B1, M1 y G1, sterigmatocistina y ocratoxina A; *Fusarium*, importante productor de fumonisinas, zearalenona, tricotecenos (deoxynivalenol, toxina T2 y DAS), fusarina y moniliformina; y *Penicillium*, que se destaca como sintetizador de patulina, citrina y ocratoxina (Araújo 2012; Munkvold 2003). Las especies del género *Aspergillus* más importantes como productoras de aflatoxinas son los de la sección Flavi, que incluyen a *A. flavus*, *A. parasiticus* y varias otras especies (Bennett y Klich 2003; Richard 2007), mientras que las especies de *Fusarium* más importantes como micotoxigénicas son *F. verticillioides*, *F. proliferatum* y *F. graminearum*, los cuales básicamente producen fumonisina, deoxynivalenol y otras sustancias de importancia secundaria (Sephard et al. 1996).

Para producir micotoxinas, controlando el tipo y las cantidades, es necesario primero obtener una alta sanidad del cultivo, y posteriormente controlar adecuadamente las principales variables del almacenamiento. Estos factores no actúan por separado, y el grado de la invasión fúngica dependerá de una interacción entre los mismos (Binder 2007). Como alternativas de manejo se utilizan los siguientes métodos: físico (Binder 2007), biológico, térmico, irradiación, absorbentes (Jouany 2007), y el empleo de compuestos secuestrantes o detoxificantes (Arroyo-Manzanares et al. 2014), así como los de atmosferas controladas, conservantes o inhibidores naturales (Chulze 2010).

En el manejo de la problemática generada por hongos en los productos agrícolas, los inhibidores fúngicos son derivados de diferentes fuentes, como el ácido transcinámico y el ácido ferúlico, solos o en mezcla (Nesci et al. 2007), quitosano (Cota-Arriola et al.

2011), propionatos de amonio, de calcio y de sodio (Moreno-Martínez et al. 2000), y más de 280 extractos vegetales de diferentes especies de plantas, de las cuales aproximadamente 100 poseen algún efecto sobre el crecimiento o producción de micotoxinas (Montes-Belmont y Carvajal 1998).

Los extractos de Neem *Azadirachta indica* (azadiractina) y *Larrea tridentata*, y los ácidos ascórbico, cítrico y láctico, son inhibidores fúngicos que presentan efectividad variable ante algunas especies de *Aspergillus* y *Fusarium* (Allameh et al. 2002; Moreno-Limón et al. 2011; Suárez-Giménez et al. 2007; Tequida-Menezes et al. 2002), y requieren mayores estudios de sus efectos inhibitorios sobre hongos micotoxigénicos, considerando que estos productos están disponibles comercialmente pero indicados para otros problemas fitosanitarios.

Teniendo en cuenta los aspectos mencionados, se planteó como objetivo de esta investigación evaluar el efecto *in vitro* de los inhibidores extracto de *Larrea tridentata* 95%; azadiractina 85%; y la mezcla de ácido ascórbico 1% + ácido cítrico 0,25% + ácido láctico 0,25%, sobre los hongos micotoxigénicos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* y *Fusarium verticillioides*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Los trabajos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Autónoma de Chapingo, ubicado en el km 38,5 de la carretera México - Texcoco, Chapingo, Estado de México. El periodo de ejecución del estudio fue entre los meses de mayo y setiembre de 2015.

Las unidades experimentales fueron placas Petri de 9 cm de diámetro con 20 ml de medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA), dispuestas en un diseño experimental completamente al azar, con 4 repeticiones. El mismo experimento fue realizado en dos réplicas para cada inhibidor y cada especie de hongo evaluado.

Los tratamientos consistieron en concentraciones de 0; 1; 10; 100; 1.000 y 10.000 ppm de los inhibidores extracto de *Larrea tridentata* 95% y azadiractina 85%, y concentraciones de 0; 1; 10; 100 y 1.000 del inhibidor conformado por la mezcla de ácido ascórbico 1% + ácido cítrico 0,25% + ácido láctico 0,25%. Los inhibidores se aplicaron agregando las diluciones requeridas de cada uno de los extractos en el medio de cultivo PDA, para obtener las respectivas concentraciones, que inmediatamente se vertieron en las placas Petri (Guerrero-Rodríguez et al. 2007), y se dejó solidificar durante 24 horas.

Posteriormente, las placas se inocularon colocando en el centro un disco de 0,4 cm de diámetro de colonia cultivada de la cepa a evaluar. Las tres especies de hongos utilizados en el experimento fueron *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus* y *Fusarium verticillioides*. Cada experimento tuvo una duración de seis días para el desarrollo micelial.

Las variables evaluadas fueron el crecimiento radial cada 48 horas, para lo cual se trazó una línea diametral por el centro de la colonia y se midió el crecimiento radial en sentido de la línea, con una regla graduada en centímetros; y el crecimiento micelial relativo al testigo absoluto, constituido por el porcentaje de crecimiento micelial en relación al testigo absoluto, considerado como el 100% de crecimiento.

Los resultados se sometieron a un el análisis de varianza (ANAVA) y una prueba de comparación múltiple de medias de Tukey ($\alpha=0.05$). Debido a que los resultados de las dos réplicas del experimento en un primer análisis resultaron similares estadísticamente, se concatenó en un solo experimento para el análisis de varianza final. Se utilizó el software de análisis estadístico SAS versión 9.3.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 *Aspergillus flavus*

En las tablas 1 y 2 se presentan los resultados correspondientes al crecimiento radial y crecimiento micelial relativo al testigo absoluto, respectivamente, de *A. flavus*, con diferentes concentraciones de inhibidores, a los seis días de la inoculación. Se observaron diferencias estadísticas altamente significativas para los tres inhibidores utilizados.

Tabla 1. Crecimiento radial del micelio (cm) de *A. flavus*, con diferentes concentraciones de inhibidores. Texcoco, 2015.

Concentración (ppm)	<i>L. tridentata</i> 95%*		Azadiractina 85%*		Ac. asc. 1% + ac. cit. 0,25% + ac. lac. 0,25%*	
0	0,54	b	0,49	ab	0,49	b
1	0,49	b	0,64	bc	0,54	b
10	0,46	b	0,72	c	0,5	b
100	0,44	b	0,58	abc	0,14	a
1.000	0,43	ab	0,43	a	0	a
10.000	0,26	a	0,43	a	-	-
CV (%)	28,86		23,24		23,69	

*Medias con letras distintas las columnas indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0,05$)

Para la mezcla de ácido ascórbico 1% + ácido cítrico 0,25% + ácido láctico 0,25%, se observó que la concentración de 1.000 ppm inhibió al 100% el crecimiento micelial del hongo, y se registró un leve crecimiento en la concentración de 100 ppm (27% crecimiento micelial relativo al testigo absoluto); estas dos concentraciones se diferenciaron significativamente de los demás tratamientos con menor concentración, las cuales no causaron inhibición y resultaron estadísticamente similares al tratamiento control (0 ppm). Así también, para el tratamiento con azadiractina 85%, los valores más bajos de crecimiento micelial fueron registrados en concentraciones de 1.000 y 10.000 ppm, con promedios similares y un crecimiento micelial relativo al testigo absoluto de 94% y 91%, respectivamente (Tabla 2). Este resultado fue similar a lo observado por Ghorbanian et al., (2008) y Bhatnagar y McCormick (1988), con *A. parasiticus*.

Tabla 2. Crecimiento micelial relativo al testigo (%) del micelio de *A. flavus*, con diferentes concentraciones de inhibidores. Texcoco, 2015.

Concentración (ppm)	<i>L. tridentata</i> 95%*		Azadiractina 85%*		Ac. asc. 1% + ac. cit. 0,25% + ac. lac. 0,25%*	
0	100	b	100	ab	100	b
1	115	b	134	ab	113	b
10	95	ab	152	ab	107	b
100	94	ab	121	ab	27	a
1.000	92	ab	91	a	0	a
10.000	55	a	94	a	-	
CV (%)	27,4		30,98		35,15	

*Medias con letras distintas las columnas indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0,05$)

Sin embargo, el crecimiento micelial fue mayor en las concentraciones de 1, 10 y 100 ppm, inclusive con promedios superiores al testigo, evidenciando que, de acuerdo a la variación de concentración, podría presentarse un efecto contradictorio y estimulante de este producto para el crecimiento micelial de *A. flavus*. Resultados similares fueron obtenidos por Da Costa et al. (2010) y Allameh et al. (2002), en concentraciones de 5.000 y 50.000 ppm de inhibidor, quienes no observaron efecto del aceite esencial de neem sobre el crecimiento micelial, pero, sin embargo, comprobaron que se produce una reducción en la producción de aflatoxinas.

Por otro lado, se observó que en el tratamiento con extracto de *Larrea tridentata* 95%, en la concentración 10.000 ppm, el crecimiento micelial relativo al testigo absoluto fue de 55% (Tabla 2), claramente superior al crecimiento en las concentraciones menores, entre las cuales no se observó diferencias significativas, y no se registró un crecimiento micelial relativo al testigo absoluto menor al 90%.

3.2 *Aspergillus fumigatus*

En las tablas 3 y 4 se presentan los resultados correspondientes al crecimiento radial en centímetros de micelio y crecimiento micelial relativo al testigo absoluto de *A. fumigatus*, bajo la acción de diferentes concentraciones de inhibidores, a los 6 días de inoculación. En este ensayo se observaron diferencias estadísticas altamente significativas para los 3 inhibidores utilizados.

Tabla 3. Crecimiento radial del micelio (cm) de *A. fumigatus*, con diferentes concentraciones de inhibidores. Texcoco, 2015.

Concentración (ppm)	<i>L. tridentata</i> 95%*		Azadiractina 85%*		Ac. asc. 1% + ac. cit. 0,25% + ac. lac. 0,25%*	
0	1,38	b	1,40	b	1,41	c
1	1,35	b	1,56	b	1,39	c
10	1,14	b	1,55	b	1,28	c
100	1,11	b	1,43	b	1,04	b
1.000	1,11	b	0,72	a	0	a
10.000	0,35	a	0,49	a	-	
CV (%)	20		12,25		15,48	

*Medias con letras distintas las columnas indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0,05$)

La mezcla de ácido ascórbico 1% + ácido cítrico 0,25% + ácido láctico 0,25% resultó muy eficiente como inhibidor de crecimiento micelial en concentraciones muy bajas para ambas especies de *Aspergillus*, incluso a concentraciones menores de lo permitido para conservación de productos alimenticios, estimado en un rango de 1 a 6% (Ribotta y Tadani 2009), lo cual refleja el efecto sinérgico de la mezcla de estos ácidos (Tabla 3). La mezcla de ácido ascórbico 1% + ácido cítrico 0,25% + ácido láctico 0,25% a 1.000 ppm inhibió completamente el crecimiento de *A. fumigatus*, mientras que en las concentraciones menores se observaron crecimientos considerables, con valores relativos al testigo

absoluto de 75% a 100 ppm, y mayor al 90% a 10 ppm, resultados estadísticamente similares al tratamiento con 1 ppm y el control (Tabla 4) En cuanto al empleo de azadiractina 85%, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos con 1.000 y 10.000 ppm, tratamiento que inhibieron el crecimiento micelial en un 52 y 54%, respectivamente, con un rango de crecimiento radial del micelio de 1,40 y 1,56 cm.

Tabla 4. Crecimiento micelial relativo al testigo (%) del micelio de *A. fumigatus*, con diferentes concentraciones de inhibidores. Texcoco, 2015.

Concentración (ppm)	<i>L. tridentata</i> 95%*	Azadiractina 85%*	Ac. asc. 1% + ac. cit. 0,25% + ac. lac. 0,25%*
0	100	93	100
1	100	105	100
10	85	105	91
100	81	97	75
1.000	82	48	0
10.000	26	46	-
CV (%)	25,17	18,4	12,84

*Medias con letras distintas las columnas indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0,05$)

El extracto de *Larrea tridentata* al 95%, tuvo su mayor eficacia en la concentración de 10.000 ppm, dosis en la cual se registró un crecimiento micelial de 0,35 cm (crecimiento micelial de 26%), diferenciándose de los valores registrados en las demás concentraciones, que superaron el 80% de crecimiento micelial relativo al testigo absoluto, y fueron estadísticamente similares al tratamiento control (Tabla 4).

3.3 *Fusarium verticillioides*

En las tablas 5 y 6 se presentan los resultados correspondientes al crecimiento radial del micelio en centímetros y el crecimiento micelial relativo al testigo absoluto de *F. verticillioides*, con diferentes concentraciones de inhibidores, a los 6 días de inoculación. Similar con lo observado en *A. flavus* y *A. fumigatus*, las diferencias registradas resultaron altamente significativas para los 3 inhibidores utilizados.

Tabla 5. Crecimiento radial del micelio (cm) de *F. verticillioides*, con diferentes concentraciones de inhibidores. Texcoco, 2015.

Concentración (ppm)	<i>L. tridentata</i> 95%*		Azadiractina 85%*		Ac. asc. 1% + ac. cit. 0,25% + ac. lac. 0,25%*	
0	0,88	c	0,88	a	0,88	bc
1	0,81	bc	1,9	d	1,19	d
10	0,66	b	2,04	d	1,02	cd
100	0,98	c	1,68	c	0,7	b
1.000	1,51	d	1,21	b	0	a
10.000	0,34	a	1,04	a	-	
CV (%)	13,72		7,51		16,25	

*Medias con letras distintas las columnas indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0,05$)

Como lo ocurrido con *A. flavus* y *A. fumigatus*, la concentración de 1.000 ppm, de ácido ascórbico 1% + ácido cítrico 0,25% + ácido láctico 0,25% inhibió en un 100% el crecimiento de *F. verticillioides*, en contraste con el tratamiento de 100 ppm, en el cual el crecimiento micelial relativo al testigo absoluto fue del 80%, inclusive observándose una clara estimulación en el crecimiento (superiores al 100%) en concentraciones menores (Tablas 5 y 6).

Para azadiractina 85%, no hubo inhibición del crecimiento de *F. verticillioides*, al contrario, se observó una estimulación del crecimiento (superiores al 100%), misma tendencia observada en *A. flavus* cuando las concentraciones del producto eran menores a 1.000 ppm. Moslem y El-Kholie (2009), comprobaron efectos inhibitorios del extracto de neem en *F. oxysporum*, al igual que Joseph et al. (2008) en *F. solani*, pero cuando las concentraciones fueron superiores a 50.000 ppm; mientras que Geraldo et al. (2010) observaron un 35% de inhibición del crecimiento de *F. oxysporum* y *F. subglutinans* sometidos a 10.000 ppm de extracto de neem.

Tabla 4. Crecimiento micelial relativo al testigo (%) del micelio de *F. verticillioides*, con diferentes concentraciones de inhibidores. Texcoco, 2015.

Concentración (ppm)	<i>L. tridentata</i> 95%*		Azadiractina 85%*		Ac. asc. 1% + ac. cit. 0,25% + ac. lac. 0,25%*	
0	100	c	100	ab	100	bc
1	93	bc	219	b	138	d
10	77	b	237	c	118	cd
100	113	c	195	d	80	b
1.000	174	d	139	cd	0	a
10.000	39	a	120	a	-	
CV (%)	15,13		12,38		19,03	

*Medias con letras distintas las columnas indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0,05$)

El extracto de *Larrea tridentata* 95% por su parte, de modo similar a lo ocurrido en *A. fumigatus*, inhibió el crecimiento de *F. verticillioides* en la concentración 10.000 ppm, alcanzando hasta un porcentaje de 39% de crecimiento relativo al testigo absoluto (Tabla 6). Mayores efectos inhibitorios se consiguieron con los extractos de *Larrea tridentata* 95%, en las especies de *Aspergillus* y *Fusarium* evaluados, sin embargo, se requiere una mayor concentración del extracto (Moreno-Limón et al. 2011; Suárez-Giménez et al. 2007; Tequida-Menezes et al. 2002), el uso de sus constituyentes antifúngicos (methyl-NDGA) en forma pura (Vargas-Arispuroa et al. 2005), o mezclas con otros inhibidores (Reyes-Munguía et al. 2014). En estos casos, cuando el objetivo es el desarrollo del producto para aplicación en materias primas para productos alimenticios, las concentraciones más elevadas o las mezclas de las mismas, deben realizarse sin comprometer la inocuidad (Stanley et al. 2007).

4. CONCLUSIÓN

La concentración de 1,000 ppm ácido ascórbico 1% + ácido cítrico 0,25% + ácido láctico 0,25% inhibió el 100% el crecimiento de *A. flavus*, *A. fumigatus* y *F. verticillioides*. La mayor efecto inhibitorio del extracto de *Larrea tridentata* 95% y azadiractina 85% se registró en *A. fumigatus*, con 74% y 54%, respectivamente, en la concentración de 10.000 ppm. El extracto de *Larrea tridentata* 95% ocasionó un 45% de inhibición del crecimiento micelial en *A. flavus* y 61% en *F. verticillioides*.

5. LISTA DE REFERENCIAS

- Allameh, A.; Razzaghi Abyane, M.; Shams, M.; Rezaee, M.B.; Jaimand, K. Effects of neem leaf extract on production of aflatoxins and activities of fatty acid synthetase, isocitrate dehydrogenase and glutathione S-transferase in *Aspergillus parasiticus*. *Mycopathologia*. v. 54, n.2, p.79-84, 2002.
- Araújo Santana, M.C. Principais tipos de micotoxinas encontradas nos alimentos de animais domésticos. *REDVET* v.3, n.7, p. 1-18, 2012.
- Arroyo-Manzanares, N.; Huertas-Pérez, J.F.; Gámiz-Gracia, L.; García-Campaña, M. Control de micotoxinas en alimentos. *Revista Boletín GRASEQA* n.7, p. 16-31, 2014.
- Bennett, J.W.; Klich M. Mycotoxins. *Clinical Microbiology. Review* n.16, p. 497-516, 2003.
- Bhatnagar, D.; McCormick, SP. The inhibitory effect of neem (*Azadirachta indica*) leaf extracts on aflatoxin synthesis in *Aspergillus parasiticus*. *Journal of American Oil Chemical Society* v.65, n.7, p. 1166-1168, 1988.
- Binder, E.M. Managing the risk of mycotoxins in modern feed production. *Animal Feed Science and Technology* n.133, p.149–166, 2007.
- Cabañes, F. Micotoxinas emergentes. Introducción. *Ver Iberoam Micol*; n.17, p.61-62, 2000.
- Chulze, S.N. Strategies to reduce mycotoxin levels in maize during storage: a review. *Food Additives and Contaminants* v.27, n.5, p.651-657, 2010.
- Cota-Arriola, O.; López-Franco, Y.L.; Burgos-Hernández, A.; Rosas-Burgos, E.C.; Plascencia-Jatomea, M.; Cortez-Rocha, M.O. Antifungal effect of chitosan on the growth of *Aspergillus parasiticus* and production of aflatoxin B1. *Polymer International* v.60, n.6, p.937-944, 2011.
- Da Costa, C.L.; Geraldo, M.R.F.; Arrotéia, C.C.; Kimmelmeier, C. In vitro activity of neem oil [*Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae)] on *Aspergillus flavus* growth, sporulation, viability of spores, morphology and aflatoxins B1 and B2 production. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, n.1, p.292-299, 2010.
- Geraldo, M.R.F.; Arroteia, C.C.; Kimmelmeier, C. The effects of neem [*Azadirachta indica* A. Juss (meliaceae)] oil on *Fusarium oxysporum* f. sp. medicagenis and

- Fusarium subglutinans* and the production of fusaric acid toxin. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, n.1, p.1-6, 2010.
- Ghorbanian, M.; Razzaghi-Abyaneh, M.; Allameh, A.; Shams-Ghahfarokhi, M.; Qorbani M. Study on the effect of neem (*Azadirachta indica* A. juss) leaf extract on the growth of *Aspergillus parasiticus* and production of aflatoxin by it at different incubation times. *Mycoses*. Jan. v.51, n.1, p.35-9, 2008.
- Guerrero-Rodríguez, E.; Solís-Gaona, S.; Hernández-Castillo, F.D.; Flores-Olivas, A.; Sandoval-López, V.; Jasso-Cantú, D. Actividad Biológica in vitro de extractos de *Flourensia cernua* D.C. en patógenos de postcosecha: *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl. *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. y *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc. *Revista Mexicana de Fitopatología*. v.25, n.1, p.48-53, 2007.
- Joseph, B.; Ahmad Dar, M.; Kumar, V. Bioefficacy of plant extracts to control *Fusarium solani* f. sp. *melongenae* incitant of brinjal wilt. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*. v.3, n.2, p. 56-59, 2008.
- Jouany, J.P. Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. *Animal Feed Science and Technology*, n.137, p.342–362, 2007.
- Montes-Belmont, R.; Carvajal, M. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. *J Food Prot*. v. 61, n.5, p.616-619, 1998.
- Moreno-Limón, S.; González-Solís, L.N.; Salcedo-Martínez, S.M.; Cárdenas-Avila, M.L.; Perales-Ramírez, A. Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* L.) sobre la inhibición in vitro de *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp. *Polibotánica*. n.32, p.193-205, 2011.
- Moreno-Martínez, E.; Vázquez-Badillo, M.; Facio-Parra, F. Uso de sales del ácido propiónico para inhibir la producción de aflatoxinas en granos almacenados de maíz. *Agrociencia* v.34, n.4, p.477-484, 2000.
- Moslem, M.A.; El-Kholie, E.M. Effect of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seeds and leaves extract on some plant pathogenic fungi. *Pakistan journal of biological sciences*. v. 12, n. 14, p1045-1049, 2009.
- Munkvold, G.P. Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. *Annual Review of Phytopathology* n. 41, p. 99-116, 2003.

- Nesci, A.; Gsponer, N.; Etcheverry, M. Natural maize phenolic acids for control of aflatoxigenic fungi o maize. *Journal of food science*. v.72, n.2, p.180-185, 2007.
- Reyes Munguía, A.; Aguilar Zárate, M.; Carrillo Inungaray, M.L. Efecto del uso combinado de extracto de *Larrea tridentata* y sorbato de potasio sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus*. *Revista Iberoamericana de Ciencias* v.1, n.2, p.63-67, 2014.
- Ribotta, P.D; Tadini, CC. Alternativas tecnológicas para la elaboración y la conservación de productos panificados. Primera edición. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. 2009. 327 p.
- Richard, J.L. Some major mycotoxins and their mycotoxicosis, an overview. *International Journal of Food Microbiology* v.119, p. 3–10, 2007.
- Shephard, G.S; Thiel, PG; Stockenström, S.; Sydenham, E.W. Worldwide survey of fumonisin contamination of corn and corn-based products. *Journal AOAC Int* v.79, n.3, p.671-687, 1996.
- Stanley, P.; Cauvain, S.P.; Young, L.S. *Technology of bread making*. 2do edition. Springer Science Business Media. New York. USA. 2007. 389 p.
- Suárez-Jiménez, G.M.; Cortez-Rocha, M.O.; Rosas-Burgos, E.C.; Burgos-Hernández, A.; Plascencia-Jatomea, M.; Cinco-Moroyoq, F.J. Antifungal activity of plant methanolic extracts against *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb. and fumonisin B1 production. *Revista Mexicana de Fitopatología* v.25, n.2, p134-142, 2007.
- Tequida-Meneses, M.; Cortez-Rocha, M.; Rosas-Burgos, E.C.; López-Sandoval, S.; Corrales-Maldonado, C. Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. *Rev. Iberoam. deMicol.* v19, p.84-88, 2002.
- Vargas-Arispuroa, I.; Reyes-Baez, R.; Rivera-Castaneda, G.; Martínez-Tellez, M.A.; Rivero-Espejelb, I. Antifungal lignans from the creosote bush (*Larrea tridentata*). *Industrial Crops and Products*. v. 22, p.101–107. 2005.