

LILIANA DE OLIVEIRA ROCHA

**Distribuição de fungos e micotoxinas em grãos de milho recém colhidos
e variabilidade genética das cepas de *Fusarium verticillioides* e
Aspergillus flavus isoladas**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação
em Microbiologia do Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São Paulo, para a
obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Benedito Corrêa

São Paulo
2010

RESUMO

ROCHA, L. O. **Distribuição de fungos e micotoxinas em grãos de milho recém-colhidos e variabilidade genética das cepas de *Fusarium verticillioides* e *Aspergillus flavus* isoladas.** 2010. 174 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

O presente trabalho teve como objetivos avaliar a micobiota e a ocorrência de aflatoxinas e fumonisinas em amostras de grãos de milho provenientes de quatro regiões do Brasil (São Paulo, Mato Grosso, Rio Grande do Sul e Bahia); identificar os isolados de *A. flavus* pela técnica de AFLP e de *Fusarium verticillioides*, utilizando as técnicas de AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) e sequenciamento parcial do gene do fator de alongação 1- α (TEF1- α); caracterizar alelos *mating types* de *F. verticillioides* por PCR (*Polymerase Chain Reaction*); comparar o potencial toxigênico das cepas com a expressão dos genes *aflR* e *aflP* (*A. flavus*) e *FUM1* e *FUM19* (*F. verticillioides*), através da técnica de real time RT-PCR. Análise da micobiota dos grãos demonstrou maior prevalência de *Fusarium verticillioides*, com níveis de atividade de água (Aa) de 0,76 a 0,87. Das amostras analisadas, 98% apresentaram contaminação por FB₁ e 74,5% por FB₁ + FB₂; enquanto 21 (10,5%) apresentaram contaminação por AFB₁, 7 (3,5%) por AFB₂ e apenas uma por AFG₁ e AFG₂ (0,5%). Do total de isolados, 96% foram identificados como *F. verticillioides*, através das técnicas de AFLP e sequenciamento parcial de TEF-1. Além disso, as filogenias obtidas por AFLP e TEF-1 α foram congruentes. Com relação aos alelos *MAT*, verificou-se proporção 7:3 (*MAT-1*:*MAT-2*), dentre os isolados de *F. verticillioides*. A similaridade dos isolados de *A. flavus* com a cepa padrão variou de 79% a 100%, e não foi observado agrupamento origem geográfica específico entre os isolados de *A. flavus* e *F. verticillioides* pela técnica de AFLP. Todos os isolados de *F. verticillioides* produziram fumonisinas, enquanto 47,37% dos isolados de *A. flavus* produziram aflatoxinas. Observou-se elevada correlação positiva entre a expressão de *FUM1* e *FUM19* e a produção de toxinas por *F. verticillioides*, e baixa correlação positiva entre os transcritos de *aflR* e *aflP* em relação ao perfil de produção de aflatoxinas por *A. flavus*, demonstrando necessidade de estudos referentes a expressão de genes relacionados à produção de micotoxinas.

Palavras chave: *Fusarium verticillioides*. *Aspergillus flavus*. Fumonisin. Aflatoxinas.
Milho. AFLP. Sequenciamento. PCR em tempo real.

ABSTRACT

ROCHA, L. O. **Distribution of fungi and mycotoxins in freshly harvested corn and genetic variability of *Fusarium verticillioides* and *A. flavus* isolated.** 2010. 174 p. Ph. D. thesis (Microbiology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

The present study aimed to verify the mycoflora and occurrence of aflatoxins and fumonisins in freshly harvested corn samples from four regions of Brazil (São Paulo, Mato Grosso, Rio Grande do Sul and Bahia); to identify *Aspergillus flavus* strains by AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) technique and *Fusarium verticillioides* by AFLP and by the translation elongation factor 1 α (TEF-1 α) partial gene sequencing; to characterize mating types alleles in *Fusarium verticillioides* by PCR (Polymerase Chain Reaction); to compare the mycotoxin-producing ability of the strains in relation to *aflR* and *aflP* gene expression (*A. flavus*) and *FUM1* and *FUM19* (*F. verticillioides*), using Real Time RT-PCR technique. Mycoflora was characterized by a predominance of *Fusarium verticillioides*, and the mean water activity (a_w) of the grains ranged from 0.76 to 0.87. Our data showed that 98% of the samples were contaminated by FB₁, and 74.5% by FB₁ + FB₂, while 21 (10.5%) showed contamination by AFB₁, seven (3.5%) by AFB₂ and only one by AFG₁ and AFG₂ (0.5%). Of the total strains, 96% were identified as *F. verticillioides* by AFLP technique and TEF-1 α sequencing. Besides, a concordant phylogeny was obtained by AFLP and TEF-1 α sequencing. Concerning the *MAT* alleles, among *F. verticillioides* strains, a proportion of approximately 7:3 was obtained. The similarity of *A. flavus* isolates with the standard strain ranged from 79% to 100%, and the results of AFLP, demonstrated a lack of relationship between the groups of the phylogenetic tree and the different geographic origins, for both *A. flavus* and *F. verticillioides* strains. All *F. verticillioides* were able to produce fumonisins, while 47.37% of *A. flavus* strains produced aflatoxins. A high positive correlation was observed between the expression of *FUM1* and *FUM19* genes and fumonisin production, and a low positive correlation was observed between the expression of *aflR* and *aflP* genes and aflatoxin production. These data demonstrate the need for studies concerning gene expression related to mycotoxins production.

Keywords: *Fusarium verticillioides*. *Aspergillus flavus*. Fumonisin. Aflatoxin. Corn. AFLP. Sequencing. Real time RT-PCR.

1 INTRODUÇÃO

O milho, cujo nome científico é *Zea mays* L., é uma planta cultivada em regiões quentes e temperadas de todo o mundo, sendo o cereal de maior produção no Brasil. Representa uma das principais culturas da agricultura brasileira, não somente no aspecto quantitativo, como também no que diz respeito à sua importância estratégica por ser base da alimentação animal e, conseqüentemente, humana (LÓPEZ-OVEJERO et al., 2004).

Esta cultura, entretanto, pode ser afetada por muitos problemas destacando-se: fertilidade do solo, época de semeadura, potencial produtivo do híbrido e ataque de agentes nocivos como plantas daninhas, pragas e doenças. As principais doenças associadas ao milho, no Brasil, são causadas por vírus, bactérias e fungos, sendo os últimos representados, principalmente pelos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* (PEREIRA, 1997; CASA e REIS, 2003). Estes podem produzir micotoxinas, metabólitos secundários tóxicos capazes de causar intoxicações agudas ou crônicas nos homens e animais. Em adição, a contaminação de grãos por micotoxinas pode acarretar perdas substanciais à economia, associadas ao impacto para a saúde humana, produtividade animal como também ao comércio internacional destes produtos, pois muitos países estabelecem limites para micotoxinas em alimentos. De acordo com a FAO, as perdas mundiais de alimentos contaminados por micotoxinas estão em torno de 1000 milhões de toneladas por ano (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 1997; COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY, 2003).

A espécie fúngica mais comumente associada à semente de milho no Brasil é *Fusarium verticillioides*, sendo que espécies do gênero *Aspergillus* também são frequentemente veiculadas por estas sementes (CASA e REIS, 2003).

F. verticillioides é a principal espécie produtora de fumonisinas, grupo de micotoxinas que ocorrem naturalmente no milho e em produtos a base de milho, consideradas pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC) como possivelmente carcinogênicas para seres humanos (MARASAS, 1996; INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 1993). A temperatura e a atividade de água

mínima para o crescimento dessa espécie são respectivamente: 2 a 37 °C e 0,87, sendo que para a produção de fumonisinas a Aa mínima é 0,90 (CAHAGNIER et al., 1995).

Até o presente momento, 28 fumonisinas foram isoladas e caracterizadas, sendo a fumonisina B₁ (FB₁) a mais importante do grupo (MUSSER e PLATTNER, 1997). Esta micotoxina pode ocasionar leucoencefalomalácia em eqüinos (LEME), edema pulmonar em suínos, câncer hepático em ratos, redução do desenvolvimento, imunossupressão, problemas cardíacos, degeneração e necrose hepática em aves, além de estar associada ao câncer esofágico em humanos (NORRED e VOS, 1994; MARASAS, 1996).

O mecanismo de ação das fumonisinas está relacionado com a inibição do metabolismo dos esfingolípideos, sendo essas estruturas relacionadas com diversas funções da célula, tais como: comunicação célula-célula, crescimento, diferenciação e transformação. Assim, a inibição da biossíntese dos esfingolípídios pode trazer graves consequências (SWEELEY, 1991; WANG et al., 1991).

A frequente ocorrência de fumonisinas no milho como também as implicações na saúde humana e animal, tem influenciado no desenvolvimento de diversas técnicas de separação para esta micotoxina, destacando-se a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector de fluorescência. Esta técnica apresenta, como vantagens, alta resolução, menor tempo de análise, alta sensibilidade e versatilidade (DILKIN et al., 2001). O uso de colunas de imunoafinidade para extração e limpeza, tem possibilitado maior especificidade permitindo limites de detecção mais baixos e utilização de menor volume de solvente (SHUNDO e SABINO, 2004).

Atualmente, a dificuldade na nomenclatura das diferentes espécies de *Fusarium*, tem resultado em divergências taxonômicas. A utilização de métodos convencionais para detecção e identificação de fungos toxigênicos em alimentos inclui cultivo do fungo e análise morfológica. Este enfoque, considerado subjetivo, requer maior disponibilidade de tempo e habilidade taxonômica (LESLIE et al., 2001; MAYER et al., 2002). Além disso, a discriminação das diferentes espécies contribui para a determinação dos riscos da exposição humana e animal aos alimentos contaminados por estes microrganismos. (LESLIE et al., 2001; LESLIE e SUMMERELL, 2006).

As aflatoxinas produzidas, principalmente, por *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius*, estão entre os mais importantes carcinógenos conhecidos, sendo classificados como classe 1 dos carcinógenos humanos pela IARC (IARC, 1993).

São conhecidas 18 diferentes moléculas do grupo, porém, a AFB₁ é a mais tóxica de todas e o fígado considerado o órgão mais afetado. Além de sua hepatotoxicidade apresenta, também, atividades mutagênica, carcinogênica e possivelmente teratogênica para animais (LEWIS et al., 1994).

As aflatoxinas precisam ser ativadas metabolicamente pelo sistema microsomal hepático para posteriormente exercer seus efeitos tóxicos. Dentre os derivados formados enzimaticamente, a aflatoxina B₁ epóxido é de particular importância, pois apresenta característica eletrofílica e, conseqüentemente, liga-se covalentemente a vários locais nucleofílicos da célula, tais como: DNA, RNA e proteínas, resultando na interferência do funcionamento celular (LEWIS et al., 1994; PARKINSON, 1996).

Existem diversas metodologias analíticas para a detecção de aflatoxinas em alimentos. Uma técnica de separação muito utilizada é a cromatografia em camada delgada (CCD), sendo que a detecção e quantificação podem ser obtidas por métodos visuais ou ainda utilizando-se densitômetros ou espectrofotômetro de fluorescência. O emprego de colunas de imunoafinidade para a extração e purificação associada a CCD tem resultado em baixos limites de detecção e quantificação para estas micotoxinas (SHUNDO e SABINO, 2004).

Técnicas baseadas na análise molecular têm sido utilizadas com êxito na identificação de espécies fúngicas e na detecção de genes responsáveis pela biossíntese de micotoxinas. Neste sentido, Patiño et al. (2005) e Jurado et al. (2005) utilizaram as regiões IGS (*Inntergenic Spacer Region*) e ITS (*Internal Transcribed Spacer Sequence*) do DNA para a identificação de *Fusarium* spp. O uso da técnica de Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos Amplificados (AFLP – *Amplified Fragment Length Polymorphism*) para a identificação de espécies e verificação da variabilidade genética entre populações fúngicas tem demonstrado grande repetitividade e eficiência (LESLIE e SUMMERELL, 2006; CHULZE et al., 2000; LEE et al., 2004; ABD-ELSALAM et al., 2003).

Dentre as técnicas atualmente utilizadas na detecção de genes responsáveis pela produção de micotoxinas, inclui-se o sequenciamento, que analisa as seqüências de bases nitrogenadas presentes nos genes, podendo identificar mutação em apenas uma única base. Entretanto, essas mutações podem ser silenciosas, podendo não afetar a estrutura do aminoácido ou a atividade da proteína produzida (ZAHA et al., 2000).

A complexidade na correlação entre as seqüências de DNA e os níveis de produção de micotoxinas contribuiu para o desenvolvimento de técnicas para análise da expressão dos genes envolvidos na biossíntese de micotoxinas. Dentre estas, destacam-se os microarranjos de DNA (*Microarrays*) e a PCR em tempo real (*Real Time PCR*) (MAYER et al., 2003). Segundo López-errasquín et al. (2007), a detecção e quantificação da expressão de genes reguladores da biossíntese de micotoxinas constitui-se de uma ferramenta importante para o estudo da capacidade genética do fungo em produzir diferentes níveis destas toxinas. Sabe-se que diversos fatores bióticos e abióticos podem influenciar fortemente a produção de micotoxinas, assim, a análise da expressão gênica também pode contribuir para a identificação de fatores que possuem preponderância na produção dessas toxinas (NICHOLSON et al., 2003). Neste sentido, a PCR em tempo real tem sido utilizada amplamente, pois garante rapidez, elevada especificidade, além de propiciar a quantificação da expressão dos genes analisados (MAYER et al., 2003; LOPÉZ-ERRASQUIN, et al., 2007).

A presença de fungos toxigênicos no milho, especialmente *A. flavus* e *F. verticillioides*, constitui-se em um sério problema nacional, pois as contaminações pelas toxinas produzidas por estes fungos causam prejuízos à economia, além de proporcionar riscos à saúde humana e animal. Assim, tornam-se necessários estudos mais aprofundados nesta área, visando a determinação de meios rápidos e eficazes na detecção destes microrganismos, como também diminuição dos riscos de contaminação dos alimentos.

7 CONCLUSÕES

Com base nos objetivos propostos e nas condições de realização deste experimento, conclui-se que:

- § *F. verticillioides* foi a espécie mais isolada nas quatro regiões, demonstrando-se adaptada, principalmente, ao substrato milho e às condições climáticas das regiões;
- § Fumonisinas foram as micotoxinas mais frequentes nos grãos, nas quatro regiões estudadas;
- § A reduzida frequência de isolamento de *A. flavus* e a baixa incidência de aflatoxinas nos grãos, podem estar relacionadas com a elevada incidência de *F. verticillioides*, uma vez que esses fungos podem apresentar uma relação de antagonismo passivo;
- § Com relação ao potencial toxigênico das cepas, constatou-se que dos 76 isolados de *A. flavus*, 36 (47,37%) foram produtores de aflatoxinas, enquanto que, das 96 cepas de *F. verticillioides*, 100% foram produtoras de fumonisinas;
- § As proporções dos alelos *MAT-1* e *MAT-2* nos isolados das regiões do Mato Grosso e Rio Grande do Sul foram semelhantes, sugerindo a possibilidade de cruzamentos no campo;
- § A técnica de AFLP propiciou clara separação das espécies de *Fusarium* confirmada, posteriormente, pelo sequenciamento parcial do gene do fator de alongação 1 α ;
- § As condições ambientais de cada região de estudo não influenciaram na variabilidade genética das cepas de *F. verticillioides* e nem dos isolados de *A.*

flavus, pois não houve relação do perfil genético dos isolados com as diferentes regiões;

§ A técnica de *real time RT-PCR* para quantificação relativa de *FUM1* e *FUM19* demonstrou-se uma boa ferramenta para estimar o nível de produção de fumonisinas pelos isolados, devido à elevada correlação entre os resultados;

§ A técnica de *real time RT-PCR* para estudo da expressão de *afIR* e *afIP* a partir de cepas padrão, demonstrou que todas as espécies foram capazes de expressar os dois genes, exceto *A. oryzae*, incapaz de expressar *afIR* e *afIP*;

§ A técnica de *real time RT-PCR* para a quantificação relativa de *afIR* e *afIP* resultou em correlação positiva entre os níveis de produção de aflatoxinas. Entretanto, há necessidade de buscar genes que estejam estritamente relacionados com a produção dessas toxinas, uma vez que os valores de correlação obtidos nessa pesquisa foram baixos.;

§ Os resultados obtidos em nossa investigação, bem como os dados encontrados na literatura, ressaltam a necessidade de outros estudos de expressão gênica em fungos toxigênicos. Além disso, pesquisas nessa área contribuem para a elucidação dos diversos fatores que possam estimular ou reprimir a biossíntese dessas toxinas, contribuindo para novas estratégias de controle.

REFERÊNCIAS*

ABBAS, H. K.; MIROCHA, C. J.; MERONUCK, R. A.; POKORNY, J. D.; GOULD, S. L.; KOMMEDAHL, T. Mycotoxins and *Fusarium* species associated with infected ears of corn in Minnesota. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, p. 1930-33, 1988.

ABDALLA, M. Y., AL-ROKIBAH, A., MORETTI, A.; MULÈ, G. Pathogenicity of toxigenic *Fusarium proliferatum* from date palm in Saudi Arabia. **Plant Disease**, v. 84, p. 321-324, 2000.

ABD-ELSALAM, K. A.; SCHNIEDER, F.; KHALIL, M. S.; ASRAN-AMAL, A.; VERREET, J. A. Use of AFLP fingerprinting to analyze genetic variation within and between populations of *Fusarium* spp. Derived from Egyptian cotton cultivars. **Journal of Plant Pathology**, v. 85, n. 2, p. 99-103, 2003.

ABDEL-SATAR, M. A.; KHALIL, M. S.; MOHMED, I. N.; ABD-ELSALAM, K. A.; VERREET, J. A. Molecular phylogeny of *Fusarium* species by AFLP fingerprint. **African Journal of Biotechnology**, v. 2, n. 3, p. 51-55, 2003.

AGUILAR, F.; HUSSAIN, S. P.; CERUTTI, P. Aflatoxin B1 induces the transversion of G/T in codon 249 of the p53 tumor suppressor gene in human hepatocytes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 90, p. 8586-8590, 1993.

ALMEIDA, A.P.; CORRÊA, B.; MALLOZZI, M.A.B.; SAWASAKI, E.; ORTEGA, E.M. Mycoflora and aflatoxin/fumonisin production by fungal isolates from freshly harvested corn hybrids. **Journal of Brazilian Society for Microbiology**, v. 31, p. 321-26, 2000.

ALMEIDA, A. P.; FONSECA, H.; FANCELLI, A. L.; DIREITO, G. M.; ORTEGA, E. M.; CORRÊA, B. Mycoflora and fumonisin contamination in Brazilian corn from sowing to harvest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 13, p. 3877-3882, 2002.

ALMEIDA, A. P.; SABINO, M.; FONSECA, H.; CORRÊA, B.-Milho recém-colhido no Brasil: interação da microbiota fúngica, fatores abióticos e ocorrência de micotoxinas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 64, p. 1-9, 2005.

ALMEIDA LIMA, V. Industrialização do milho. In: FANCELLI L. A.; LIMA, V. A. (Eds.). **Milho: produção, pré-processamento e transformação agroindustrial**. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia, 1983. p.77-112. (Série 5).

AOKI, T.; O'DONNELL, K. *Fusarium kyushuense* sp. nov. from Japan. **Mycoscience**, v. 39, p. 1-6, 1998.

ASEVEDO, I. G.; GAMBALE, W. CORRÊA, B.; PAULA C. R.; SOUZA, V. M.; ALMEIDA, R. M. A. D. Mycoflora and aflatoxigenic species of *Aspergillus* spp. isolated from stored maize. **Veterinary Microbiology**, v. 25, p. 46-50, 1994.

*De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

AMORIM, D. S. **Fundamentos de sistemática filogenética**. Ribeirão Preto, SP: Holos Editora, 2002. 154p.

AZEVEDO, M. O.; FELIPE, M. S. S.; BRÍGIDO, M. M.; MARANHÃO, A. Q.; SOUZA, M. T. **Técnicas básicas em biologia molecular**. Brasília: Universidade Federal de Brasília, 2003. 211p.

BACON, C. W.; NELSON, P. E. Fumonisin production in corn by toxigenic strains of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. **Journal of Food Protection**, v. 57, p. 514-21, 1994.

BARBESGAARD, P.; HELDT-HANSEN, H. P.; DIDERICHSEN, B. On the safety of *Aspergillus oryzae*: a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 36, p. 569-572, 1992.

BARROS, G. G.; CHIOTTA, M. L.; REYNOSO, M. M.; TORRES, A. M.; CHULZE, S. N. Molecular characterization of *Aspergillus* section *flavi* isolates collected from peanut fields in Argentina using AFLPs. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 900-909, 2007.

BAUTISTA, A. R. P.; OLIVEIRA, M. Z. A.; MIRANDA, M. S.; SALES, L. A. Aflatoxinas em grãos de milho armazenado no Estado da Bahia. **Revista da Sociedade Brasileira de Toxicologia**, v. 2, n. 1, p. 24-25, 1989.

BAYMAN, P.; COTTY, P. J. Association with aflatoxin production and morphology. **Canadian Journal of Botany**, v. 71, n.1, p. 23-31, 1993.

BENNETT, J. W.; FERNHOLZ, F. A. Effect of light on aflatoxins, anthraquinones, and sclerotia in *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. **Mycologia**, v. 70, p. 106-116, 1978.

BENNETT, J.W. *Aspergillus*: a primer for the novice. **Medical Mycology**, p. S1-S8, 2009.

BERJAK, P. Report of seed storage committee working group on the effects of storage fungi on seed viability. 1980-1983. **Seed Science and Technology**, v. 12, p. 233-253, 1984.

BEZUIDENHOUT, C. S.; GELDERBLUM, W. C. A.; GOST-ALLMAN, C. P.; HORAK, R. M.; MARASAS, W. F. O.; SPITELLER, G.; BLEGGAR, R. Structure elucidation of fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. **Journal of Chemical Society, Chemical Communications Articles**, p. 743-45, 1988.

BILGRAMI, K. S.; SINHA, K. K. Aflatoxins: their biological effects and ecological significance. In: BHATNAGAR, D.; LILLEHOJ, E.B.; ARORA, D.K. (Eds.). **Handbook of Applied Mycology: "Mycotoxins in Ecological Systems"**, New York: Marcel Dekker Inc, 1992. v. 5, p. 59-78.

BOK, J. W.; KELLER, N. P. LaeA, a regulator of secondary metabolism in *Aspergillus* spp. **Eukaryotic Cell**, v. 3, p. 527–535, 2004.

BOTTINI, A. T.; GILCHRIST, D. G. Phytotoxins. I. A 1- aminodimethylheptadecapentanol from *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. **Tetrahedron Letters**, v. 22, p. 2719-22, 1981.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria nº 183, de 21 de março de 1996. Art 1. Adotar regulamento técnico MERCOSUL sobre limites máximos de aflatoxinas admissíveis no leite, amendoim e milho, aprovada pela resolução do Grupo Mercado Comum do Sul nº 56/94, de 01 de janeiro de 1995. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 25 de março de 1996.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 274, de 15 de outubro de 2002. Aprova o regulamento técnico sobre limites máximos de aflatoxinas admissíveis no leite, no amendoim e no milho. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 de outubro de 2002.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. COPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO (CONAB). 2008. Avaliação da safra 2007/2008. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/index.php>. Acesso em 12 maio 2008.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. COPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO (CONAB). 2009. Monitoramento da safra de grãos do Brasil, 2009/2010 – Terceiro levantamento - Dezembro/2009. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/index.php>. Acesso em 19 jan. 2010.

BRESSAC, B.; KEW, M.; WANDS, J.; OZTURK, M. Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa. **Nature**, v. 350, p. 429–431, 1991.

BRITZ, H.; STEENKAMP, E. T.; COUTINHO, T. A.; WINGFIELD, B. D.; MARASAS, W. F. O.; WINGFIELD, M. J. Two new species of *Fusarium* section *Liseola* associated with mango malformation. **Mycologia**, v. 94, p. 722-730, 2002.

BULLERMAN, L. B. Significance of mycotoxins to food safety and human health. **Journal of Food Protection**, v. 42, n. 1, p. 65-86, 1979.

CAHAGNIER, B.; MELCION, D.; RICHARD-MOLARD, D. Growth of *Fusarium moniliforme* and its biosynthesis of fumonisin B₁ on maize grain as a function of different water activities. **Letters of Applied Microbiology**, v. 20, p. 247-51, 1995.

CALDAS, E. D.; SILVA, S. C.; OLIVEIRA, J. N. Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana. **Revista de Saúde Pública**, v. 36, n. 3, p. 319-23, 2002.

CAMARGOS, S. M.; VALENTE-SOARES, L. M.; SAWAZAKI, E.; BOLONHEZI, D.; CASTRO, J. L.; BORTOLLETO, N. Fumonisin in corn cultivars grown during 97/98 season in state of São Paulo, Brazil. In: INTERNATIONAL IUPAC SYMPOSIUM – MYCOTOXINS AND PHYCOTOXINS, 10, 200, Guarujá, SP. **Resumos**. São Paulo: IUPAC, 2000. p. 141.

CASA, R. T.; REIS, E. M. Doenças na cultura do milho. In: FANCELLI, A. L.; DOURADO, D. Neto. (Eds.). **Milho: estratégias de manejo e alta produtividade**. Piracicaba: Escola Superior da Agricultura “Luiz de Queiroz”, Departamento da Produção Vegetal, 2003. p. 1-18.

COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY (CAST). **Mycotoxins: risks in plant, animal and human systems**. Task Force Report, Ames, Iowa, USA, n. 139, 2003.

CASTELLA, G.; LARSEN, T. O.; CABAÑES, J.; SCHIMIDT, H.; ALBORESI, A.; NIESSEN, L.; FÄRBER, P.; GEISEN, R. Molecular characterization of ochratoxin A producing strains of the genus *Penicillium*. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 25, p. 74-83, 2002.

CASTRO, M. F. P. M.; SOARES, L. M. V.; FURLANI, R. R. Z. Mycoflora, aflatoxigenic species and mycotoxins in freshly harvest corn (*Zea mays* L.): a preliminary study. **Revista de Microbiologia**, v. 26, p. 289-95, 1995.

CHANG, P. K.; CARY, J. W.; BHATNAGAR, D.; CLEVELAND, T. E.; BENNETT, J. W. Cloning of the *Aspergillus parasiticus* *apa-2* gene associated with the regulation of aflatoxin biosynthesis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 3273–3279, 1993.

CHANG, P. K.; EHRLICH, K. C.; YU, J.; BHATNAGAR, D.; CLEVELAND, T. E. Increased expression of *Aspergillus parasiticus* *aflR*, encoding a sequence-specific DNA-binding protein, relieves nitrate inhibition of aflatoxin biosynthesis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, p. 2372–2377, 1995.

CHANG, P. K. The *Aspergillus parasiticus* protein AFLJ interacts with the aflatoxin pathway-specific regulator AFLR. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 268, p. 711-19, 2003.

CHASIN, A. A. M.; CHASIN, M.; SALVADORI, M. C. Validação de métodos cromatográficos em análises toxicológicas. **Revista de Farmácia e Bioquímica**, Universidade de São Paulo, São Paulo. v. 30, n. 2, p. 49-53, 1994.

CHATTERJEE, D., MUKHERJEE, S. K. ; DEY, A. Nuclear disintegration in chicken peritoneal macrophages exposed to fumonisin B₁ from Indian maize. **Letters in Applied Microbiology**, v. 20, p. 184-185, 1995.

CHRISTENSEN, C. M.; SAUER, D. B. Mycoflora. In: CHRISTENSEN, C. M. (Ed.). **Storage of cereal grains and their products**. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 1982. p. 219-40.

CHULZE, S.N.; RAMIREZ, M.L.; FARNOCHI, M.C. *Fusarium* and fumonisin occurrence in Argentinian corn at different ear maturity stages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 2797-2801, 1996.

CHULZE, S. N.; RAMIREZ, M. L.; TORRES, A.; LESLIE, J. F. Genetic variation in *Fusarium* section *Liseola* from no-till maize in Argentina. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, p. 5312-315, 2000.

CORRÊA, B.; GALHARDO, M.; COSTA, E. O.; SABINO, M. Distribution of molds and aflatoxins in dairy cattle feeds and raw milk. **Revista de Microbiologia**, v. 28, p. 279-283, 1997.

CORTÊS, N. A.; NETO, D. C.; CORREA, B. Ocorrência de aflatoxinas em milho produzido pelo sistema de cultivo, em comunidades de agricultura familiar, no estado do Mato Grosso. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 77, p. 16-26, 2000.

CRAWFORD, J. M.; KORMAN, T. P.; LABONTE, J. W.; VAGSTAD, A. L.; HILL, E. A.; KAMARI-BIDKORPEH, O.; TSAI, S. C.; TOWNSEND, C. A. Structural basis for biosynthetic programming of fungal aromatic polyketide cyclization. **Nature**, v. 461, p. 1139-44, 2009.

[CRUZ](#), J. C.; [CORRÊA](#), L. A.; [FILHO](#), I. A. P.; [PEREIRA, F. T. F.](#); GUISTEM, J. M.; [VERSIANI](#), R. P. Embrapa Milho e Sorgo Sistema de Produção, 1: Cultivares de Milho disponíveis no mercado de sementes do Brasil para a safra 2004/05. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/> Acesso 12 jan. 2009.

CUMAGUN, C. J. Female fertility and mating type distribution in a Philippine population of *Fusarium verticillioides*. **Journal of Applied Genetics**, v. 48, p. 123-126, 2007.

DAVIS, A. N. D.; DIENER, U. L.; ELDRIDGE, D. W. Production of Aflatoxins B1 and G1 by *Aspergillus flavus* in a semisynthetic medium. **Applied Microbiology**, v. 14, n. 3, p. 378-80, 1966.

DEACON, J. W. **Introduction to modern mycology**. London, United Kingdom: Blackwell Sci. Publ., 1984. 2 ed., 238 p.

DELP, R. B.; STEWELL, L. J.; MAROIS, J. J. Evaluation of field sampling techniques for estimation of disease incidence. **Phytopathology**, v. 76, p. 1299-305, 1986.

DESJARDINS, A. E.; PLATTNER, R. D.; PROCTOR, R. H. Genetic and biochemical aspects of fumonisin production. In: JACKSON, L. S.; DEVRIES, J. W.; BULLERMAN, L. B. (Eds.). *Fumonisin in Food*. New York: Plenum Press, 1996. p. 165-173.

DESJARDINS, A. E.; MANANDHAR, H. K.; PLATTNER, R. D.; MANANDHAR, G.; POLING, S. M.; MARAGOS, C. M. *Fusarium* species from Nepalese rice and production of mycotoxins and gibberellic acid by selected species. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, p. 1020-25, 2000.

DESJARDINS, A. E. ***Fusarium* mycotoxins: chemistry, genetics and biology**. Minnesota: APS Press, 2006, 260p.

DIAZ, G. J. ; BOERMANS, H. J. Fumonisin toxicosis in domestic animals: a review. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 36, n. 6, p. 548-555, 1994.

DILKIN, P.; MALLMAN, C. A.; ALMEIDA, C. A. A.; CORRÊA, B. Robotic automated clean-up for detection of fumonisins B₁ and B₂ in corn and corn-based feed by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 965, p.151-157, 2001.

EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION (CEN). CEN/TC 275/wgs Food Analysis – Biotoxins- Criteria of Analytical Methods of Mycotoxins. **CEN Report CR 1350S**, Berlin, Germany, 1999, 10p.

FANCELLI, A. L. Tecnologia da Produção. In: FANCELLI, A. L. et al. (Eds). **Milho: produção, pré-processamento e transformação agroindustrial**. São Paulo: Secretaria da Agricultura e Comércio, Ciência e Tecnologia, 1983. p. 1-68.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Worldwide regulations for mycotoxins**. A compendium. Food and Nutrition Paper. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, paper 64, 1997.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **The state of food and agriculture**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2008.

FOOD AND DRUGS ADMINISTRATION (FDA). **Background paper in support of fumonisin levels in corn and corn products intended for human consumption**. US Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition. FDA, 2001. Available in: <http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/fumonbg1.html> Accessed in: 10 feb. 2009.

FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. Filamentous fungi in Foods and Feeds: Ecology, spoilage and mycotoxins production. In: DILIP, K. et al. (Eds.) **Handbook of Applied Mycology: Foods and Feeds**. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 31-68.

FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A.; SMEDSGAARD, J. *Emericella astellata*, a new producer of aflatoxin B₁, B₂ and sterigmatocystin. **Letters in Applied Microbiology**, v. 38, p. 440-45, 2004.

FRISVAD, J. C.; LUND, F.; ELMHOLT, S. Ochratoxin A producing *Penicillium verrucosum* isolates from cereals reveal large AFLP fingerprinting variability. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 684-692, 2005.

FRISVAD, J. C.; SMEDSGARRD, J.; SAMSON, R. A.; LARSEN, T. O.; THRANE, U. Fumonisin B₂ production by *Aspergillus niger*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 55, p. 9727- 32, 2007.

FUTUYMA, D. J. **Biologia evolutiva**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética,1997. p. 232-324.

GALLO, A.; EPIFANI, F.; BONSEGNA, S.; PASCALE, M.; SANTINO, A.; PERRONE, G. Analysis of genes early expressed during *Aspergillus flavus* colonization of hazelnut. **International Journal of Food Microbiology**, v. 137, p. 111-15, 2010.

GACHON, C.; MINGAM, A.; CHARRIER, B. Real-time PCR: what relevance to plant studies? **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 402, p. 1445-54, 2004.

GEISER, D. M.; PITT, J. I.; TAYLOR, J. W. Cryptic speciation and recombination in the aflatoxin-producing fungus *Aspergillus flavus*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 95, p. 388-393, 1998.

GEISER, D. M.; DORNER, J. W, HORN, B. W.; TAYLOR, J. W. The phylogenetics of mycotoxin and sclerotium production in *Aspergillus flavus* and *Aspergillus oryzae*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 31, p. 169-179, 2000.

GEISER, D. M.; JIMENEZ-GASCO, M.; KANG, S.; MAKALOWSKA, N.; VEERARAGHAVAN, T. J.; WARD, N.; ZHANG, G. A.; KULDAU, G. A.; O'DONNELL, K. FUSARIUM-ID v.1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, p. 473-479, 2004.

GELDERBLOM, W. C. A. ; MARASAS, W. F. O. ; VLEGGAR, R. ; THIEL, P. G. ; CAWOOD, M. E. Fumonisin: isolation, chemical characterization and biological effects. **Mycopathologia**, v. 117, p. 11-6, 1992.

GEORGIANNA, D. R.; PAYNE, G. A. Genetic regulation of aflatoxin biosynthesis: from gene to genome. **Fungal Genetics and Biology**, v. 46, p. 113-125, 2009.

GIBBON, B.; LARKINS, B. A. Molecular genetics approaches to developing quality protein maize. **Trends in Genetics**, v. 21, n. 4, p. 227-233, 2005.

GLENN, A. E.; GOLD, S. E.; BACON, C. W. *Fdb1* and *Fdb2*, *Fusarium verticillioides* loci necessary for detoxification of performed antimicrobials from corn. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 15, p. 91-101, 2002.

GLORIA, E. M.; CALORI-DOMINGUES, M. A.; SOUZA, M. Evaluation of the black light test for screening aflatoxin-contaminated maize in the Brazilian food industry. **Food Additives and Contaminants**, v. 15, n. 2, p. 181-4, 1998.

GONG, H. Z.; JI, R.; LI, Y. X.; ZHANG, H. Y.; LI, B.; ZHAO, Y.; SUN, L.; YU, F.; YANG, J. Occurrence of fumonisin in corn from the main corn-producing areas of China. **Mycopathologia**, v. 167, p. 31-36, 2009.

GOTO, T.; WICKLOW, D. T.; ITO, Y. Aflatoxin and cyclopiazonic acid production by a sclerotium-producing *Aspergillus tamarii* strain. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, p. 4036-4038, 1996.

GRIFFIN, D. H. **Fungal physiology**. New York: Willey-Liss, 1994. 472p.

GRODZICKER, T.; WILLIAMS, J.; SHARP, P.; SAMBROOK, J. Physical mapping of temperature-sensitive mutations of Adenovirus. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, v. 39, p. 439-46, 1974.

HARRINGTON, T. C.; RIZZO, D. M. Defining species in the Fungi. In: WORRAL, J. J. (Ed.). Structures and dynamics of Fungal Populations. Boston, Massachusetts, U.S.A.: Kluwer Academic Publishers, 1999. p. 43-71.

HASEGAWA, R. H.; FONSECA, H.; FANCELLI, A. L.; SILVA, V. N.; SCHAMMASS, E. A.; REIS, T. A.; CORRÊA, B. Influence of macro – and micronutrient fertilization on fungal contamination and fumonisin production in corn grains. **Food Control**, v. 19, p. 36-43, 2008.

HENNIGEN, M. R.; VALENTE SOARES, L. M.; SANCHEZ, S.; DI BENEDETTO, N. M.; LONGHI, A.; EYHERABIDE, G.; TORROBA, J.; ZANELLI, M. Fumonisin in corn hybrids grown in Argentina for 2 consecutive seasons. In: DE KOE, W. J.; SAMSON, R. A.; VAN EGMOND, H. P.; GILBERT, J.; SABINO, M. (Eds.). **Proceedings of the 10th International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phytotoxins**. IUPAC: Guarujá, Brazil, 2000. p. 331–9.

HENNINGEN, M.R.; DICK, T. Incidence and abundance of mycotoxins in maize in Rio Grande do Sul, Brazil. **Food Additives and Contaminants**, v. 12, n. 5, p. 677-81, 1995.

HENRY, M. H. e WYATT, R. D. The toxicity of fumonisin B1, B2 and B3, individually and in combination, in chicken embryos. **Environment and Health**, v. 80, p. 401-407, 2001.

HIROOKA, E. Y.; YAMAGUCHI, M. M.; AOYAMA, S.; SUGIURA, Y.; UENO, Y. The natural occurrence of fumonisins in Brazilian corn kernels. **Food Additives and Contaminants**, v. 13, p. 173-183, 1996.

HORN, B. W.; MOORE, G. G.; CARBONE, I. Sexual reproduction in *Aspergillus flavus*. **Mycologia**, v. 101, n. 3, p. 423-429, 2009.

HUANG, C. J.; CHUANG, T. Y.; TSENG, T. C. Contamination of *Aspergillus flavus* on corn kernels and production of aflatoxin by fungus in Taiwan. **Plant Protection Bulletin**, v. 32, p. 195-202, 1990.

HURST, C. J. **Manual of Environmental Microbiology**. Washington, DC: American Society for Microbiology, 2001. 1158 p.

HUSSEIN, S. H.; BRASEL, J. M. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, v. 167, p. 101-134, 2001.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon: IARC, 1993. v. 56, p. 445-446.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO). **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. Revisão: 01, 2003, 35p.

ITO, Y.; PETERSON, S. W.; WICKLOW, D. T.; GOTO, T. *Aspergillus pseudotamarii*, a new aflatoxin producing species in *Aspergillus* section *Flavi*. **Mycological Research**, v. 105, n. 2, p. 233-239, 2001.

JOHNSON, V. J. ; SHARMA, R. P. Gender-dependent immunosuppression following subacute exposure to fumonisin B₁. **International Immunopharmacology**, v. 1, p. 2023-2034, 2001.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES. Summary and conclusions of the fifty-sixth meeting, Geneva, Switzerland, p. 1-33 (www.who.int/pcs/jecfa/summary56.pdf). Publicado como: **Safety evaluation of certain mycotoxins in food**. 2001. WHO Food Additives Series No. 47/FAO. Food and Nutrition Paper 74.

INSTITUTE FOR BIOMEDICAL RESEARCH. Primer 3. Available in: <http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>. Accessed in: 06 jun. 2010.

JURADO, M.; VÁZQUEZ, C.; PATIÑO, B.; GONZÁLEZ-JAÉN, M. T. PCR detection assays for the trichothecene-producing species *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium poae*, *Fusarium equiseti* and *Fusarium sporotrichioides*. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 28, p. 562-68, 2005.

JURADO, M.; MARÍN, P.; MAGAN, N.; GONZÁLEZ-JAÉN, M. T. Relationship between solute and matrix potential stress, temperature, growth and *Fum1* gene expression in two *Fusarium verticillioides* strains from Spain. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, p. 2032–2036, 2008.

JURADO, M.; MARÍN, P.; CALLEJA, C.; MORETTI, A.; VÁZQUEZ, C.; GONZÁLEZ-JAÉN, M. T. Genetic variability and fumonisin production by *Fusarium proliferatum*. **Food Microbiology**, v. 27, p. 50-57, 2010.

JURGENSON, J. E.; ZELLER, K. A.; LESLIE, J. F. Expanded genetic map of *Gibberella moniliformis* (*Fusarium verticillioides*). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n.4, p.1972-1979, 2002.

KALE, S. P.; MILDE, L.; TRAPP, M. K.; FRISVAD, J. C.; KELLER, N. P.; BOK, J. W. Requirement of LaeA for secondary metabolism and sclerotial production in *Aspergillus flavus*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 45, p. 1422–1429, 2008.

KATO, N.; BROOKS, W.; CALVO, A. M. The expression of sterigmatocystin and penicillin genes in *Aspergillus nidulans* is controlled by *veA*, a gene required for sexual development. **Eukaryotic Cell**, v. 2, p. 1178-1186, 2003.

KLICH, M. A. **Identification of common *Aspergillus* species**. Netherlands: CBS, 2002.

KOKALIS-BURELLE, N.; PORTER, D. M.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; SMITH, D. H.; SUBRAHMANYAM, P. **Compendium of peanut diseases**. 2 ed. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1997. 94 p.

LACEY, J.; RAMAKRISHNA, N.; HAMER, A.; MAGAN, N.; MARFLEET, C. Grain fungi. In: DILIP, K.; ARORA, D. K.; MUKERJI, K. G.; MARTH, E. H. (Eds.). **Handbook of Applied Mycology: foods and feeds**. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 121-77.

LACEY, J.; MAGAN, N. Fungi in cereal grain: their occurrence and water and temperature relations. In: CHELKOWSKI, J. (Ed.). **Cereal grain: mycotoxins, fungi and quality in drying and storage**. Amsterdam: Elsevier Science, 1991. p. 77-118.

LAURENT, D.; PELLEGRIN, F.; KOHLER, F.; COSTA, R.; THEVENON, J.; LAMBERT, C.; HUERRE, M. La fumonisine B₁ dans la pathogenic de la leucoencephalomalacie equine. **Microbiologie, Aliments, Nutrition**, v. 7, p. 285-91, 1989.

LEE, C. Z.; LIOU, G. Y.; YUAN, G. F. Comparison of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus oryzae* by amplified fragment length polymorphism. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 45, p. 61-68, 2004.

LESLIE, J. F. Mating population in *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium* section *Liseola*). **Phytopathology**, v. 81, p. 1058-60, 1991.

LESLIE, J. F. Introductory biology of *Fusarium moniliforme*. In: JACKSON, L.S.; De VRIES, J.W.; BULLERMAN, L.B. (Eds.). **Fumonisin in food**. New York: Plenum Press, 1996. p. 153-164.

LESLIE, J. F.; KLEIN, K. K. Female fertility and mating type effects on effective population size and evolution in filamentous fungi. **Genetics**, v. 144, p. 557-567, 1996.

LESLIE, J. F. Genetic status of *Gibberella fujikuroi* species complex. **Plant Pathology Journal**, v. 15, p. 259-69, 1999.

LESLIE, J. F.; ZELLER, K. A.; SUMMERELL, B. A. Icebergs and species in populations of *Fusarium*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 59, p. 107-117, 2001.

LESLIE, J. F.; ZELLER, K. A.; LOGRIECO, A.; MULÈ, G.; MORETTI, A.; RITIENI, A. Species diversity and toxin production by strains in the *Gibberella fujikuroi* species complex isolated from native prairie grasses in Kansas. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 2254-62, 2004.

LESLIE, J. F.; ZELLER, K. A.; LAMPRECHT, S.; RHEEDER, J. P.; MARASAS, W. F. O. Toxicity, pathogenicity, and genetic differentiation of five species of *Fusarium* from sorghum and millet. **Mycology**, v. 5, n.3, p. 275-283, 2005.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The *Fusarium* laboratory manual**. Iowa: Blackwell Publishing, 2006. 388p.

LESLIE, J. F.; ANDERSON, L. L.; BOWDEN, R. L.; LEE, Y. W. Inter- and intra-specific genetic variation in *Fusarium*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 119, p. 25-32, 2007.

LEWIS, C. W.; ANDERSON, J. G.; SMITH, J. E. Health – related aspects of the genus *Aspergillus*. In: SMITH, J.E. (Ed.). **Biotechnology Handbooks – *Aspergillus***. New York: Plenum Press, 1994. p. 219-261.

LILLEHOJ, E. B.; KWOLEK, W. F.; GUTHRIE, W. D.; BARRY, D.; MCMILLIAN, W. W.; WIDSTRON, N. W. Aflatoxin accumulation in preharvest maize (*Zea mays* L.) kernels, interactions of 3 fungal species in European corn borer *Ostrinia nubilis* and 2 hybrids. **Plant Soil**, v. 65, p. 95-102, 1982.

LILLEHOJ, E. B.; ZUBER, M. S. Distribution of toxin-production fungi in nature maize kernels from diverse environments. **Tropical Science**, v. 28, p. 19-24, 1988.

LIMA, C. S.; PFENNING, L. H.; COSTA, S. S.; CAMPOS, M. A.; LESLIE, J. F. A new *Fusarium* lineage within the *Gibberella fujikuroi* species complex is the main causal agent of mango malformation disease in Brazil. **Plant Pathology**, v. 56, p. 33-42, 2009.

LIN, M. T. e DIANESE, J. C. A coconut-Agar Medium for rapid detection of aflatoxin production by *Aspergillus* spp. **Phytopathology**, v. 66, p. 1466-69, 1976.

LINN, S.; ARBER, W. Host specificity of DNA produced by *Escherichia coli*, X. In vitro restriction of phage fd replicative form. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 59, p. 1300-1306, 1968.

LIU, B. H.; CHU, F. S. Regulation of *afIR* and its product, AfIR, associated with aflatoxin biosynthesis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 3718-3723, 1998.

LÓPEZ-ERRASQUÍN, E.; VÁZQUEZ, C.; JIMÉNEZ, M.; GONZÁLEZ-JAÉN, M. T. Real-time RT-PCR assay to quantify the expression of *fum1* and *fum19* genes from the fumonisin-producing *Fusarium verticillioides*. **Journal of Microbiological Methods**, v. 68, p. 312-17, 2007.

LÓPEZ-OVEJERO, R. F.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; NICOLAI, M.; BARELA, J. F. Manejo de plantas daninhas na cultura do milho. In: FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. (Eds.). **Milho: Estratégias de Manejo para Alta Produtividade**. Piracicaba: Escola Superior da Agricultura "Luiz de Queiroz", Departamento da Produção Vegetal, 2003. p. 47-79.

LOURENÇO, A.; DURIGON, E. L.; ZANOTTO, P.; MADEIRA, J. E. G. C.; ALMEIDA, A. P.; CORREA, B. Genetic diversity of environmental *Aspergillus flavus* strains in the state of São Paulo, Brazil by random amplified polymorphic DNA. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n.6, p. 687-692, 2007.

MACKENZIE, D. W. R. Reynote lecture: *Aspergillus* in man. In: VANDEN BOSSCHE, H.; MACKENZIE, D. W. R.; CAUWENBERGH, G. (Ed.). **Aspergillus and Aspergilosis**. New York: Plenum Press, 1988, p. 332.

MAGNOLI, C. E.; SAENZ, M. A.; CHIACCHIERA, S. M.; DALCERO, A. M. Natural occurrence of *Fusarium* species and fumonisin-production by toxigenic strains isolated from poultry feeds in Argentina. **Mycopathologia**, v. 145, p. 35-41, 1999.

MALLMAN, C. A.; SANTURIO, J. M.; DILKIN, P. Fumonisin B₁ in cereals and feeds from southern Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 68, n.1, p.41-45, 2001.

MANN, G. E.; CODIFER, L. P.; DELLEAR, F. G. Effect of heat on aflatoxin in oil seed meals. **Journal of Agriculture and Food Science**, v. 15, p. 1090-92, 1967.

MARASAS, W. F. O Fumonins: Their Implication for Human and Animal Health. **Natural Toxins**, v. 3, p. 193-198, 1995.

MARASAS, W. F. O. Fumonins: history, world-wide occurrence and impact. In: JACKSON, L.S.; De VRIES, J.W.; BULLERMAN, L.B. (Eds.). **Fumonins in food**. New York: Plenum Press, 1996. p. 1-17.

MARIN, S.; SANCHIS, V.; ARNAU, F. Colonization and competitiveness of *Aspergillus* and *Penicillium* species on maize grain in the presence of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 45, p. 107-117, 1998.

MARIN, S.; ALBAREDA, X.; RAMOS, A. J.; SANCHIS, V. Impact of environment and interactions of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* with *Aspergillus parasiticus* and fumonisin B₁ and aflatoxins on maize grain. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, p. 1060-68, 2001.

MATIOLI, S. R.; PASSOS-BUENO, M. R. S. Métodos baseados em PCR para análise de polimorfismos de ácidos nucléicos. In: MATIOLI, S. R. (Ed.). **Biologia Molecular e Evolução**. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001. 202p.

MAYER, Z.; BAGNARA, A.; FÄRBER, P.; GEISEN, R. Quantification of copy number of *nor-1*, a gene of the aflatoxin biosynthetic pathway by real-time PCR, and its correlation to the cfu of *Aspergillus flavus* in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 82, n. 2, p. 143-151, 2002.

MAYER, Z.; FÄRBER, P.; GEISEN, R. Monitoring the production of aflatoxin B₁ in wheat by measuring the concentration of *nor-1* mRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 2, p. 1154-58, 2003.

MERRILL, A. H. Jr. *De novo* sphingolipid biosynthesis: A necessary, but dangerous, pathway. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, p. 25841-46, 2002.

MIGHELI, Q.; BALMAS, V.; HARAK, H.; SANNA, S.; SCHERM, B.; AOKI, T.; O'DONNELL, K. Molecular phylogenetic diversity of dermatologic and other human pathogenic fusarial isolates from hospitals in Northern and Central Italy. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 4, p. 1076-84, 2010.

MILLS, J. T. Ecology of mycotoxigenic *Fusarium* species on cereal seeds. **Journal of Food Protection**, v. 52, p. 737-42, 1989.

MOODY, S. F.; TYLER, B. M. Restriction Enzyme Analysis of Mitochondrial DNA of the *Aspergillus flavus* group: *A. flavus*, *A. parasiticus*, and *A. nomius*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 8, p. 2441-52, 1990.

MOGENSEN, J. M.; KRISTIAN, F. N.; SAMSON, R. A.; FRISVAD, J. C.; THRANE, U. Effect of temperature and water activity on the production of fumonisins by *Aspergillus niger* and different *Fusarium* species. **BMC Microbiology**, v. 9, p. 1-12, 2009.

MONTIEL, D.; DICKINSON, M. J.; LEE, H. A.; DYER, P. S.; JEENES, D. J.; ROBERTS, I. N.; JAMES, S.; FULLER, R. J.; MATSUCHIMA, K.; ARCHER, D. B. Genetic differentiation of the *Aspergillus* section *Flavi* complex using AFLP fingerprints. **Mycological Research**, v. 107, n. 12, p. 1427-34, 2003.

MORENO, E. C.; GARCIA, G. T.; ONO, M. A.; VIZONI, E.; KAWAMURA, O.; HIROOKA, E. Y.; ONO, E. Y. S. Co-occurrence of mycotoxins in corn samples from the Northern region of Paraná State, Brazil. **Food Chemistry**, v. 116, p. 220-226, 2009.

MORETTI, A.; MULÈ, G.; SUSCA, A.; GONZALEZ-JAÉN, M. T.; LOGRIECO, A. Toxin profile, fertility and AFLP analysis of *Fusarium verticillioides* from banana fruits. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, p. 601-609, 2004.

MOSCHINI, R. C.; CARRANZA, M. R.; CARMONA, M. A. Meteorological-based predictions of wheat head blight epidemics in the Southern Argentinian Pampas region. **Cereal Research Communication**, v. 32, p. 45-52, 2004.

MUNKVOLD, G. P.; HELLMICH, R. L.; RICE, L. G. Comparison of fumonisin concentration in kernels of transgenic Bt maize hybrids and nontransgenic hybrids. **Plant Disease**, v. 83, p. 130-138, 1999.

MUSSER, S. M.; PLATTNER, R. D. Fumonisin composition in culture of *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and *Fusarium nygamai*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 45, p. 1169-73, 1997.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **GeneBank**. Available in: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Accessed in: 06 jun. 2010

NEI, M.; LI, W. H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 76, p. 5269-5273, 1979.

NELSON, P. E.; TOUSON, T. A. MARASAS, W. F. O. ***Fusarium* species. An illustrated manual for identification**. Pennsylvania: University Press, 1983. 193p.

NELSON, P. E. Taxonomy and biology of *Fusarium moniliforme*. **Mycopathologia**, v. 117, p. 29-36, 1992.

NELSON, M. A. Mating systems in Ascomycetes: a romp in the sac. **Trends in Genetics**, v. 12 n. 2, p. 69-73, 1996.

NETER, J.; KUTNER, M. K.; NACHTSHEIM, C. J.; WASSERMAN, W. **Applied linear statistical models**, Irwin: Chicago, 1996. 4 ed., 1408 p.

NICHOLSON, P.; CHANDLER, E.; DRAEGER, R. C.; GOSMAN, N. E. SIMPSON, D. R.; THOMSETT, M.; WILSON, A. H. Molecular tools to study epidemiology and toxicology of *Fusarium* head blight of cereals. **European Journal of Plant Pathology**, v. 109, p. 691-703, 2003.

NIREMBERG, H. I.; O'DONNELL, K. New *Fusarium* species and combinations within the *Giberella fujikuroi* species complex. **Mycologia**, v. 90, p. 434-458, 1998.

NOGUEIRA-JÚNIOR, S.; NOGUEIRA, E. A.; TSUNECIRO, A. **Considerações sobre a agroindústria do milho**. São Paulo: Instituto Agrônômico de Agricultura, 1987. v. 27, p.1-18. Relatório de Pesquisa.

NORRED, W. P.; VOS, K. A. Toxicity and role of fumonisin in animal diseases and human esophageal cancer. **Food Protection**, v. 57, p. 522-7, 1994.

O' BRIAN, G. R.; GEORGIANNA, D. R.; WILKINSON, J. R.; YU, J.; ABBAS, H. K. The effect of elevated temperature on gene transcription and aflatoxin biosynthesis. **Mycologia**, v. 99, p. 232-39, 2007.

O'DONNELL, K.; CIGELNIK, E.; NIREMBERG, H. I. Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. **Mycologia**, v. 9, p.465-93, 1998.

O'DONNELL, K.; SUTTON, D. A.; FOTHERGILL, A.; MCCARTHY, D.; RINALDI, M. G.; BRANDT, M. E.; ZHANG, N.; GEISER, D. M. Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex, **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, p. 2477–2490, 2008.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. **Fundamentos de toxicologia**. São Paulo: Atheneu, 1996. 2. ed. 696p.

OLIVE, D. M.; BEAN, P. Minireview: principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 3, n. 6, p. 1661-1669, 1999.

ONO, E. Y.; SUGIURA, Y.; HOMECHIN, M.; KAMOGAE, M.; VIZZONI, E.; UENO, Y. Effect of climatic conditions on natural mycoflora and fumonisins in freshly harvest corn of the state of Parana, Brazil. **Mycopathologia**, v. 147, n.3, p. 139-8, 1999.

ONO E. Y.; ONO M. A.; FUNO, F. Y.; MEDINAL, A. E.; OLIVEIRA T. C.; KAWAMURA, T. O.; UENO, Y.; HIROOKA E. Y. Evaluation of fumonisin-aflatoxin co-occurrence in Brazilian corn hybrids by ELISA. **Food Additives and Contaminants**, v. 18, n. 8, p. 719-29, 2001.

ONO, E. Y. S.; FUNGARO, M. H. P.; SOFIA, S. H.; FIGUEIRA, E. L. Z.; GERAGE, A. C.; ICHIONE, M.; SUGIURA, Y.; UENO, Y.; HIROOKA, E. Y. Trends of fumonisin contamination and animal intoxication through monitoring 1991 to 1997 corn crop in the State of Paraná, Brazil. **Mycopathologia**, v. 158, p. 451-455, 2004.

ONO, E. Y. S.; SILVA, M.; HASHIMOTO, E. H.; VIZONI, E.; KAWAMURA, O.; SUGIURA, Y.; HIROOKA, E. Y. Mycotoxicological quality evaluation of corn samples used by processing industries in the Northern region of Paraná State, Brazil. **Food Additives and Contaminants**, v. 25, p. 1-8, 2008.

ORSI, R. B.; CORRÊA, B.; POZZI, C. R.; SCHAMMASS, E.; NOGUEIRA, J. R.; DIAS, S. M. C.; MALOZZI, M. Mycoflora and occurrence of fumonisins in freshly harvest and stored hybrid maize. **Journal of Stored Products Research**, v. 36, p. 75-87, 2000.

PAES, M. C. D. Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho. **Circular Técnica**, n. 75, p. 1-6, 2010. Disponível em:

http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/2006/circular/Circ_75.pdf.

Acesso em: 06 jun. 2010.

PAPA, K. E. Heterokaryon incompatibility in *Aspergillus flavus*. **Mycologia**, v. 78, p. 98-101, 1986.

PARISI, A.; LATORRE, L.; NORMANNO, G.; MICCOLUPO, A.; FRACCALVIERI, R.; LORUSSO, V.; SANTAGADA, G. Amplified fragment length polymorphism and multi-locus sequence typing for high-resolution genotyping of *Listeria monocytogenes* from foods and the environment. **Food Microbiology**, v. 27, p. 101-108, 2010.

PARKINSON, A. Biotransformation of xenobiotics. In: KLAASSEN, C.D. (Ed.). **Toxicology; the Basic Science of Poisons**. New York: Mc Graw-Hill, 1996. v. 7, p. 113-186.

PASTER, N.; BULLERMAN, L. B. Mould spoilage and mycotoxins formation in grains as controlled by physical means. **International Journal of Food Microbiology**, v. 7, p. 257-65. 1988.

PATIÑO, B.; GONZÁLEZ-SALGADO, A.; GONZÁLEZ-JÁEN, M. T.; VÁZQUEZ, C. PCR detection assays for the ochratoxin-producing *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus ochraceus* species. **International Journal of Food Microbiology**, v. 104, p. 207-14, 2005.

PAYNE, G. A.; NIERMAN, W. C.; WORTMAN, J. R.; PRITCHARD, B. L.; BROWN, D.; DEAN, R. A.; BHATNAGAR, D.; CLEVELAND, T. E.; MASHIDA M.; YU, J. J. Whole genome comparison of *Aspergillus flavus* and *A. oryzae*. **Medical Mycology**, v. 44, p. 9–11, 2006.

PENNSYLVANIA STATE UNIVERSITY. **Fusarium – Id V. 1.0**: a DNA Sequence Database for Identifying *Fusarium*. Available in:

<http://board.fusariumdb.org/board2.php?a=dv&nu=42&id=2>. Accessed in: 06 jun. 2010.

PEREIRA, O. A. P. Doenças do milho. In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIN, A. Filho; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p. 538-555.

PERRONE, G.; MULE, G.; SUSCA, A.; BATTILANI, P.; PIETRI, A., LOGRIECO, A. Ochratoxin A production and amplified fragment length polymorphism analysis of *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus tubigiensis* and *Aspergillus niger* strains isolated from grapes in Italy. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, p. 680-685, 2006.

PETERSON, S. W.; ITO, Y.; HORN, B. W.; GOTO, T. *Aspergillus bombycis*, a new aflatoxigenic species and genetic variation in its sibling species, *A. nomius*. **Mycologia**, v. 93, n. 4, p. 689-703, 2001.

PFAFFL, M. W. A new mathematical model for relative quantification in real time RT-PCR. **Nucleic Acids Research**, v. 29, n. 9, p. 2002-07, 2001.

PIER, A. C. Mycotoxins and mycotoxicoses. In: BIBERSTEN, E.L.; ZEE, Y.C. (Eds.). **Review of Veterinary Microbiology**. London: Blackwell Scientific Publication, 1990. p. 346-55.

PILDAIN, M. B.; FRISVAD, J. C.; VAAMONDE, G.; CABRAL, D.; VARGA, J.; SAMSON, R. A. Two novel aflatoxin-producing *Aspergillus* species from Argentinean peanuts. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, p. 725-35, 2008.

PITT, J. I.; KING, A. D.; HOCKING, A. D. Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 37, p. 959-64, 1979.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. Gaithersburg: Aspen Pub., Inc., 1997. 2 ed., 593p.

POWELL, K. A.; RENWICK, A.; PEBERDY, J. F. **The genus *Aspergillus* from taxonomy and genetics to industrial application**. New York: Plenum Press, 1994. p. 1-28.

POZZI, C. R.; CORRÊA, B.; GAMBALE, W.; PAULA, C. R.; CHACON-RECHE, N. O.; MEIRELLES, M. C. A. Post-harvest and stored corn in Brazil: mycoflora interaction, abiotic factors and mycotoxins occurrence. **Food Additives and Contaminants**, v. 12, p. 313-19, 1995.

PRICE, M. S.; CONNERS, S. B.; TACHDJIAN, S.; KELLY, R. M.; PAYNE, G. A. Aflatoxin conducive and non-conducive growth conditions reveal new gene associations with aflatoxin production. **Fungal Genetics and Biology**, v. 42, p. 506-518, 2005.

PRINGLE, A.; BAKER, D. M.; PLATT, J. L.; LATGE, J. P.; TAYLOR, J. W. Cryptic speciation in the cosmopolitan and clonal human pathogenic fungus *Aspergillus fumigatus*. **Evolution**, v. 59, p. 1886-1899, 2005.

PROCTOR, R. H.; DESJARDINS, A. E.; PLATTNER, R. D.; HOHN, T. M. A polyketide synthase gene required for biosynthesis of fumonisins mycotoxins in *Gibberella fujikuroi* mating population A. **Fungal Genetics and Biology**, v. 27, p.100-12, 1999.

PROCTOR, R. H.; DAREN, W. B.; PLATTNER, R. D.; DESJARDINS, A. E. Co-expression of 15 contiguous genes delineates a fumonsin biosynthetic gene in *Gibberella moniliformis*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 38, p. 237-49, 2003.

PURSCHWITZ, J.; MULLER, S.; KASTNER, C.; SCHOSER, M.; HAAS, H. Functional and physical interaction of blue and red-light sensors in *Aspergillus nidulans*. **Current Biology** v. 18, p. 255-59, 2008.

QU, B.; LI, H. P.; ZHANG, J. B.; XU, Y. B.; HUANG, T.; WU, A. B.; CARTER, J.; NICHOLSON, P.; LIAO, Y. C. Geographic distribution and genetic diversity of the *Fusarium graminearum* and *F. asiaticum* on wheat spikes throughout China. **Plant Pathology**, v. 57, p. 15-24, 2008.

RAPER, K. B.; FENNELL, D. I. **The genus *Aspergillus***. Baltimore: Williams e Wilkins, 1965. 686p.

REYNOSO, M. M.; CHULZE, S. N.; ZELLER, K. A.; TORRES, A. M.; LESLIE, J. F. Genetic structure of *Fusarium verticillioides* populations isolated from maize in Argentina. **European Journal of Plant Pathology**, v. 123, p. 207-215., 2009.

RICHARD, J. L.; BENNETT, G. A.; ROSS, P. F.; NELSON, P. E. Analysis of naturally occurring mycotoxins in feedstuffs and food. **Journal of Animal Sciences**, v. 71, p. 2563-74, 1993.

RILEY, R. T.; WANG, E.; SCHROEDER, J. J.; SMITH, E. R.; PLATTNER, R. D.; ABBAS, H.; YOO, H. S.; MERRILL, A. H.; Evidence for Disruption of Sphingolipid Metabolism as a Contributing Factor in The Toxicity and Carcinogenicity of Fumonisin. **Natural Toxins**, v. 4, n. 1, p. 3-15, 1996.

RIGBY, R. A.; STASINOPOULOS, D. M. Generalized additive models for location, scale and shape. **Journal of the Royal Statistical Society: Series C (Applied Statistics)**, v. 54, p. 507-54, 2005.

RILEY, R. T.; ENONGENE, E. N.; VOSS, K. A.; NORRED, W. P.; MEREDITH, F. I.; SHARMA, R. P.; SPITSBERGEN, J.; WILLIAMS, D. E.; CARLSON, D. B.; MERRILL, A. H. Sphingolipid perturbation as mechanisms for fumonisin carcinogenesis. **Environmental Health Perspectives Supplements**, v. 109, n. S2, 2001.

ROMERO, G.; ADEVA, C.; BATTAD, Z. **Genetic fingerprinting: Advancing the frontiers of crop biology research.** **Philippine Science Letters**, v. 2, n. 1, p.8-13, 2009.

ROCHA, L. O.; NAKAI, V. K.; BRAGHINI, R.; REIS, T. A.; KOBASHIGAWA, E.; CORRÊA, B. Mycoflora and co-occurrence of fumonisins and aflatoxins in freshly harvested corn in different regions of Brazil. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 10, p. 5090-5103, 2009.

RODRIGUES, P.; SOARES, C.; KOZAKIEWICZ, Z.; PATERSON, R. R. M.; LIMA, N.; VENÂNCIO, A. Identification and characterization of *Aspergillus flavus* and aflatoxins. **Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology**, p. 527-534, 2007.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; SABINO, M. Mycotoxin research in Brazil: the last decade in review. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, p. 1-11, 2002.

ROSS, P. F.; NELSON, P. E.; RICHARD, J. L.; PLATTNER, R. D.; RICE, L. G.; OSWEILLER, G. D.; WILSON, T. M. Production of fumonisin by *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* isolates associated with equine leukoencephalomalacia and pulmonary edema syndrome swine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, p. 3224-6, 1990.

ROSS, R. F.; RICE, L. G.; PLATTNER, R. D.; OSWEILLER, G. D.; WILSON, T. M.; OWENS, D. L.; NELSON, H. A.; RICHARD, J. L. Concentrations of fumonisin B₁ in feeds associated with animal health problem. **Mycopathologia**. v. 114, p. 129-35, 1991.

SABINO, M.; PRADO, G.; IONAMATA, I. O.; PEDROSO, M. O.; GARCIA, R. V. Natural occurrence of aflatoxins and zearalenone in maize in Brazil. **Food Additives and Contaminants**, v. 6, p.327-331, 1989.

SAITOU, N.; NEI, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, v.4, n.4, p.406-425, 1987.

SALAY, E.; MERCADANTE, A. Z. Mycotoxins in Brazilian corn for animal feed: occurrence and incentives for the private sector to control the level of contamination. **Food Control**, v. 13, p. 87-92, 2002.

SAMSON, R. A., HOEKSTRA, E. S., FRISVAD, J. C. **Introduction to food-borne fungi**. Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 1996. 5 ed. 322 p.

SAMSON, R. A.; PITT, J. I. **Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification**. Hardwood: Academic Publishers Reading, 2000. p. 51-72.

SAMSON, R. A.; VARGA, J. "What is a species in *Aspergillus*?". **Medical Mycology**, v. 47, p. 13-20, 2009.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 74, n. 12, p. 5463-67, 1977.

SCHEMALE, D. G.; LESLIE, J. K.; ZELLER, K. A.; SALEH, A. A.; SHIELDS, E. J. Genetic structure of atmospheric populations of *Gibberella zeae*. **Phytopathology**, v. 96, p. 1021-1026, 2006.

SCHERM, B.; PALOMBA, M.; SERRA, D.; MARCELLO, A.; MIGHELI, Q. Detection of transcripts genes *afID*, *afIO* and *afIP* by reverse transcription-polymerase chain reaction allows differentiation of aflatoxin-producing and non-producing isolates of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 98, p. 201-210, 2005.

SCHMIDT-HEYDT, M.; MAGAN, N.; GEISEN R. Stress induction of mycotoxin biosynthesis genes by abiotic factors. **FEMS Microbiology Letters**, v. 284, p. 142–149, 2008.

SCHMIDT, H.; NIESSEN, L.; VOGEL, R. F. AFLP analysis of *Fusarium* species in the section *Sporotrichiella*- evidence for *Fusarium langsethiae* as new species. **International Journal of Food Microbiology**, v. 95, p. 297-304, 2004.

SCHMIDT, H.; TANIWAKI, M. H.; VOGEL, R. F.; NIESSEN, L. Utilization of AFLP markers for PCR-based indentification of *Aspergillus carbonarium* and indication of its presence in green coffee samples. **Journal of Applied Microbiology**, v. 97, p. 899-909, 2004.

SCHMIDT-HEYDT, M.; ABDEL-HADI, A.; MAGAN, N.; GEISEN, R. Complex regulation of the aflatoxin biosynthesis gene cluster of *Aspergillus flavus* in relation to various combinations of water activity and temperature. **International Journal of Food Microbiology**, v. 135, p. 231-237, 2009a.

SCHMIDT-HEYDT, M.; HÄCKEL, S.; RÜFER, C. E.; GEISEN, R. A strain of *Fusarium kyushuense* is able to produce aflatoxin B₁ and G₁. **Mycotoxin Research**, v. 25, p. 141-47, 2009b.

SCHMITTGEN, T. D.; LIVAK, K. J. Analyzing real-time PCR data by the comparative Ct method. **Nature Protocols**, v. 3, p. 1101-1108, 2008.

SCOTT, P. M. Natural poisons. In: HELRICH, K. (Ed.). **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Official methods of analysis. Arlington, Virginia: Association of Official Analytical Chemists, 1990. 15 ed., v. 2, 1193p.

SEO, J. A.; PROCTOR, P. H.; PLATTNER, R. D. Characterization of four clustered and coregulated genes associated with fumonisin biosynthesis in *Fusarium verticillioides*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 34, p. 155-165, 2001.

SHARMA, S; SALUNKE, D. K. Introduction to mycotoxins. In: SHARMA; S. (Ed.). **Mycotoxins and Phytoalexins**. Londres: CRC Press, 1991. 775 p.

SHUNDO, L.; SABINO, M. Aflatoxin M₁ in milk by immunoaffinity column cleanup with TLC/HPLC determination. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 164-67, 2006.

SILVA, V. N. S., FERNANDES, F. M. C., CORTEZ, A., RIBEIRO, D. H. B., ALMEIDA, A. P., HASSEGAWA, R. H. AND CORRÊA, B. Characterization and genetic variability of *Fusarium verticillioides* strains isolated from corn and sorghum in Brazil based on fumonisins production, microsatellites, mating type locus and mating crosses. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 798-804, 2006a. Acesso em 06 jun. 2010.

SILVA, G. J.; GUIMARÃES, C. T.; PARENTONI, S. N.; RABEL, M.; LANA, U. G. P.; PAIVA, E. Produção de haplóides androgenéticos em milho. **Documentos**, n. 81, p. 7-17, 2009. Disponível em: http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/2009/documento/Doc_81.pdf b.

SMITH, J. E.; HENDERSON, R. S. **Mycotoxins and animal foods**. London: CRC Press, 1991. p.816-841.

SMITH, J. E.; ROSS, I. C. The toxigenic *Aspergillus*. In: SMITH, J. E.; HENDERSON, R. S. (Eds.). **Mycotoxins and Animal Foods**. London: CRC Press, 1991. p. 31-61.

SOARES, L. M. V.; RODRIGUES-AMAYA, D. B. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi-toxin thin layer chromatographic method. **Journal of Association Official Analytical Chemists (AOAC)**, v. 72, p. 22-6, 1989.

STACK, M. E.; EPPLEY, R. M. Liquid chromatographic determination of fumonisins B₁ and B₂ in corn and corn products. **Journal of Association Official Analytical Chemists (AOAC)**, v. 72, p. 834-837, 1992.

STEENKAMP, E. T.; WINGFIELD, B. D.; COUTINHO, T. A.; ZELLER, K. A.; WINGFIELD, M. J.; MARASAS, W. F. O.; LESLIE, J. F. PCR – based identification of *Mat-1* and *Mat-2* in the *Giberella fujikuroi* species complex. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n.10, p. 4378-82, 2000.

SWEELEY, C. C. Sphingolipids. In: VANCE, D. E.; VANCE, J. E. (Eds.). **Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes**. Amsterdam: Elsevier Science Publ., 1991. p. 327-61.

SWEENEY, M. J.; PAMIES, P.; DOBSON, A. D. W. The use of reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) for monitoring aflatoxin production in *Aspergillus parasiticus* 439. **International Journal of Food Microbiology**, v. 56, p. 97-103, 2000.

SWOFFORD, D. **PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony**. Version 4, Massachusetts: Sinauer Associates, 1998.

SYDENHAM, E. W.; SHEPHARD, G. S. THIEL, P. G.; SNIJMAN, P. W.; STOCKENSTROM, S. Liquid chromatographic determination of fumonisin B₁, B₂ and B₃ in corn: AOAC- IUPAC collaborative study. **Journal of Association Official Analytical Chemists (AOAC)**, v. 79, p. 688-96, 1996.

TAYLOR, J. W.; GEISER, D. M.; BURT, A.; KOUFOPANOU, V. The evolutionary biology and population genetics underlying fungal strain typing. **Clinical Microbiological Reviews**, v. 12, n. 1, p. 126-146, 1999a.

TAYLOR, J. W.; JACOBSON, D. J.; KROKEN, S.; KASUGA, T.; GEISER, D. M.; HIBBETT, D. S.; FISHER, M.C. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. **Fungal Genetics and Biology**, v. 31, p. 21-32, 1999b.

TAYLOR, J. W.; FISHER, M. C. Fungal multilocus sequence typing – it's not just for bacteria. **Current Opinion in Microbiology**, v. 6, p. 351-356, 2003.

THIEL, P. G.; MARASAS, W. F. O. SYDENHAM, G. S.; GELDERBLUM, W. C. A.; NIEUWENHUIS, J. J. Survey of fumonisins production by *Fusarium* species. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, p. 1089-93, 1991.

TOLLESON, W. H.; COUCH L. H.; MELCHIOR, W. B.; JENKINS G. R.; MUSKHELISHVILI, M.; MUSKHELISHVILI, L.; MCGARRITY, L. J.; DOMON, O. E.; MORRIS, S. M.; HOWARD, P. C. Fumonisin B₁ induces apoptosis in cultured human keratinocytes through sphinganine accumulation and ceramide depletion. **International Journal of Oncology**, v. 14, n.5, p. 833-843, 1999.

TOONEN, R. J.; HUGHES, S. Increased throughput for fragment analysis on an ABI 377 Automated Sequencer using a 100- lase Rapid Load membrane combination and STRand software. **Biological Techniques**, v.31, p.1320-1324, 2001.

TORRES, A. M.; RAMIREZ, M. L.; ARROYO, M.; CHULZE, S. N.; MAGAN, N. Potential use of antioxidants for control of growth and fumonisin production by *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* on whole maize grain. **International Journal of Food Microbiology**, v. 83, p. 319-324, 2003.

TRAN-DINH, N.; KENNEDY, I.; BUI, T.; CARTER, D. Survey of Vietnamese Peanuts, Corn and Soil for the Presence of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. **Mycopathologia**, v. 168, n.5, p. 257-68, 2009.

VAN DER WESTHUIZEN, L.; SHEPHARD, G. S.; SCUSSEL, V. M.; COSTA, L. L. F.; VISMER, H. F.; RHEEDER, J. P.; MARASAS, W. F. O. Fumonisin contamination and *Fusarium* incidence in corn from Santa Catarina, Brazil. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, p. 5574-78, 2003.

VAN WYK, P. S.; SCHOLTZ, D. J.; MARASAS, W. F. O. Protection of maize seedlings by *Fusarium moniliforme* against infection by *Fusarium graminearum* in the soil. **Plant Soil**, v. 107, p. 251-58, 1988.

VIGIER B.; REID L. M.; SEIFERT K. A.; STEWART D. W.; HAMILTON R. I. Distribution and prediction of *Fusarium* species associated with maize ear rot in Ontario. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 19, p. 60-65, 1997.

VISCONTI, A.; SOLFRIZZO, M.; GIROLAMO, A. Determination of fumonisins B₁ and B₂ in corn and corn flakes by liquid chromatography with immunoaffinity column cleanup: collaborative study. **Food Chemical Contaminants**, v. 84, n. 6, p. 1828-1837, 2001.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T. V.; HORNS, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZEBEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v. 23, n. 21, p. 4407-14, 1995.

WAALWIJK, C.; VAN DER LEE, T.; DE VRIES, I.; HESSELINK, T.; ARTS, J.; KEMA, G. H. Synteny in toxigenic *Fusarium* species: The fumonisin gene cluster and the mating type region as examples. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, p. 533-44, 2004.

WALKER, M. R.; RAPLEY, R. **Guia de Rotas na Tecnologia do Gene**. São Paulo: Atheneu, 1999. 334p.

WANG, E.; NORRED, W. P.; BACON, C. W.; RILEY, R. T.; MERRIL JR., A. M. Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins. Implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 266, p. 1486-90, 1991.

WARFIELD, C. Y.; GILCHRIST, D. G. Influence of kernel age on fumonisin B₁ production in maize by *Fusarium moniliforme*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 2853-56, 1999.

WATSON, S. A.; RAMSTAD, P. E. **Corn: Chemistry and Technology**. St. Paul, Minnesota: Am. Assoc. Cereal Chem., 1987. 349p.

WEIBKING, T. S.; LEDOUX, D. R.; BROWN, T. P.; ROTTINGHAUS, G. E. Fumonisin toxicity in turkeys poults. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 5, n. 1, p. 75-83, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Mycotoxins Environmental Health Criteria**. Geneva: WHO, 1979. v. 11, p. 21-84.

WICKLOW, D. T.; HORN, B. W.; SHOTWELL, O. L.; HESSELTINE, C. W.; CALDWELL, R. W. Fungal interference with *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination of maize grown in a controlled environment. **Phytopathology**, v. 78, p. 68-74, 1988.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, p. 6531-35, 1990.

WUNSCH, M. J.; BAKER, A. H.; KALB, D. W.; BERGSTRON, G. C. Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *loti* Forma Specialis nov., a monophyletic pathogen causing vascular wilt of birdsfoot trefoil. **Plant Disease**, v. 93, n. 1, p. 58-66, 2009.

XAVIER, J. G.; BRUNNER, C. H. M.; SAKAMOTO, M.; CORRÊA, B.; FERNADES, W. E.; DIAS, J. L. C. Equine leukoencephalomalacia: Report of five cases. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 28, p. 185-9, 1991.

YIN, Y.; LOU, T.; YAN, L.; MICHAILIDES, T. J.; MA, Z. Molecular characterization of toxigenic and atoxigenic *Aspergillus flavus* isolates, collected from peanut fields in China. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, n. 6, p. 1857-1865, 2009.

YU, J.; CHANG, P. K.; EHRLICH, K. C.; CARY, J. W.; BHATNAGAR, D.; CLEVELAND, T. E. Comparison of the *omtA* genes encoding O-methyltransferases involved in aflatoxin biosynthesis from *Aspergillus parasiticus* and *A. flavus*. **Gene**, v. 163, p. 121-25, 1995.

YU, J.; MOHAWED, S. M.; BHATNAGAR, D.; CLEVELAND, T. E. Substrate-induced lipase gene expression and aflatoxin production in *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, p. 1334–1342, 2003.

YU, J.; CHANG, P. K.; EHRLICH, K. C.; CARY, J. W.; BHATNAGAR, D.; CLEVELAND, T. E.; PAYNE, G. A.; LINZ, J. E.; WOLOSHUK, C. P.; BENNET, J. W. Clustered pathways genes in aflatoxin biosynthesis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 1253–1262, 2004.

YUN, S. H.; ARIE, T.; KANEKO, I.; YODER, O. C.; TURGEON, B.G. Molecular organization of mating type loci in heterothallic, homothallic, and asexual *Gibberella/Fusarium* species. **Fungal Genetics Biology**, v. 31, p. 7-20, 2000.

ZAHA, A. **Biologia Molecular Básica**. Porto Alegre: Mercado Aberto, 1996. 336p.

ZALAR, P.; FRISVAD, J. C.; GUNDE-CINEMAN, N.; VARGA, J.; SAMSON, R. A. Four new species of *Emericella* from Mediterranean region of Europe. **Mycologia**, v. 100, n. 5, p. 779-95, 2008.

ZERINGUE JR., H. J.; BHATNAGAR, D.; CLEVELAND, T. E. C₁₅H₂₄ volatile compounds unique to aflatoxigenic strains of *Aspergillus flavus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 2264-70, 1993.

ZEVADA, M. Z. Producción de aflatoxinas por cepas aisladas de maíz. **Revista Latino-Americana de Microbiología**, v. 13, p. 263-6, 1971.

ZORZETE, P.; CASTRO, R. S.; POZZI, C. R.; ISRAEL, A. L. M.; FONSECA, H.; YANAGUIBASHI, G.; CORRÊA, B. Relative populations and toxin production by *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides* in artificially inoculated corn at various stages of development under field conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, p. 48-55, 2008.