

CAPITULO 8

Toxinas

Ismael Malbrán, Cecilia A. Mourellos

Los microorganismos son capaces de producir un amplio rango de metabolitos secundarios. Algunos de ellos pueden poseer altos niveles de actividad biológica y ser tóxicos para otros microorganismos, plantas o animales. Desde mediados del siglo XIX, y asociado al descubrimiento de patologías cuyos síntomas no se encuentran directamente relacionados con los efectos directos del organismo causal, existe la presunción de que hay factores bioquímicos que están implicados en la ocurrencia de enfermedades en las plantas. Entre estos factores se encuentran las toxinas, metabolitos microbianos nocivos para las plantas a muy bajas concentraciones que inducen parte o todos los síntomas de las enfermedades ocasionadas por los patógenos que las producen.

Muchas especies de hongos y bacterias patógenas producen toxinas tanto en condiciones de cultivo como en contacto con las plantas. Es importante diferenciar a estos compuestos de otros como las enzimas pectinolíticas y las hormonas o reguladores del crecimiento que, aunque puedan estar directamente implicados en el desarrollo de la enfermedad, no son considerados toxinas. Las toxinas son compuestos producidos por los microorganismos que las plantas son incapaces de biosintetizar, mientras que las hormonas son habitualmente productos del metabolismo vegetal que en condiciones normales no resultan tóxicas pero que al producirse en exceso por acción de un patógeno pueden ser causantes de la expresión de síntomas.

Las toxinas se clasifican de acuerdo con distintos criterios. Uno de ellos es su rol biológico y distingue entre moléculas implicadas en la patogenicidad y moléculas implicadas en la virulencia, entendiendo a la patogenicidad como la capacidad de ocasionar enfermedad (efecto cualitativo) y a la virulencia como la cantidad o extensión de la enfermedad ocasionada (efecto cuantitativo). Las toxinas implicadas en la patogénesis normalmente son producidas en las etapas tempranas del desarrollo de la enfermedad mientras que las que constituyen factores de virulencia pueden difundirse desde el sitio de infección a los tejidos circundantes o ser trasladadas en la planta por el apoplasto.

Otro criterio de clasificación considera la implicancia de las toxinas en la determinación de los hospedantes de un determinado patógeno. Un número limitado de toxinas, denominadas específicas o selectivas, son altamente tóxicas hacia el hospedante del patógeno que las produce, mientras que otras, las toxinas no específicas, pueden afectar a distintas especies de plantas. Dentro de este último grupo se encuentran todas las toxinas producidas por las especies de bacterias fitopatógenas y la mayoría de las producidas por las especies fúngicas.

En cuanto a las toxinas específicas, actualmente se conocen cerca de 20 compuestos de este tipo producidos exclusivamente por hongos fitopatógenos implicados en enfermedades de las plantas, siendo la mayor parte de las conocidas producidas por dos géneros: *Bipolaris* (teleomorfo *Cochliobolus*) y *Alternaria*. Las especies de *Bipolaris* son principalmente patógenas de especies monocotiledóneas, mientras que las especies de *Alternaria* son afectan mayormente a plantas dicotiledóneas.

Toxinas hospedante-específicas

La co-evolución de las plantas y las formas ancestrales de los patógenos actuales puede haber jugado un rol fundamental en la evolución de su capacidad para sintetizar toxinas. Además de especies patógenas, los géneros *Bipolaris* y *Alternaria* comprenden especies saprófitas y parásitas oportunistas. Dentro de las especies patógenas se encuentran aquellas productoras de toxinas hospedante-específicas, que se distinguen de las especies saprófitas u oportunistas solo por la presencia de unos pocos genes. La adquisición de estos genes, usualmente asociados a la capacidad de producir toxinas, puede transformar una cepa benigna en un patógeno altamente especializado. Ejemplos de este tipo de eventos lo constituyen las toxinas victorina, producida por *B. victoriae* (teleomorfo *C. victoriae*), la toxina-T o HMT, producida por *B. maydis* (teleomorfo *C. heterostrophus*), y las toxinas producidas por los distintos patotipos de *A. alternata*.

El tizón de Victoria, ocasionado por *B. victoriae*, apareció repentinamente en los cultivos de avena del estado norteamericano de Iowa como consecuencia de la difusión de cultivares con el gen V_b . El gen, que otorgaba resistencia a la roya, confería también susceptibilidad al nuevo patógeno. Rápidamente se demostró que la causante de la patogenicidad de *B. victoriae* frente a estos genotipos era la toxina victorina o HV. La nueva enfermedad resultó tan destructiva que en pocos años todos los cultivares de avena con el gen V_b tuvieron que ser descartados. La capacidad de producir esta toxina hospedante-selectiva, controlada solo por un par de genes, es lo único que diferencia a las cepas de *B. victoriae* de las de *B. zeicola* o *B. sorokiniana*.

Las dos razas conocidas de *B. maydis* son patogénicas: la raza T produce la toxina HMT y es altamente virulenta en genotipos de maíz con citoplasma androestéril mientras que la raza 0 no produce la toxina y es un patógeno menor en maíz, independientemente del citoplasma. La raza T apareció repentinamente en Iowa en 1968 y causó una epidemia devastadora de tizón sureño del maíz. La epidemia fue consecuencia de la prevalencia de genotipos de maíz con citoplasma androestéril *Tms*, que confería mayor susceptibilidad al patógeno. En esta especie no existen cepas no patogénicas y la toxina HMT funcionaría como un factor de virulencia: su producción no es necesaria para ocasionar enfermedad pero es requerida para la ocurrencia de una alta virulencia en maíces conteniendo citoplasma androestéril. La capacidad de producir esta toxina en las cepas de la raza T está asociada con la presencia de un único gen. La población de la raza T de *B. maydis* en los campos declinó rápidamente a partir de 1972 cuando los genotipos con citoplasma androestéril fueron reemplazados con híbridos insensibles a la toxina.

Algunas cepas de *A. alternata* producen toxinas hospedante-específicas que serían responsables de su patogenicidad. Las formas patógenas de esta especie se desarrollaron como patógenos altamente específicos (patotipos) a partir de la producción de toxinas específicas: las cepas que producen estas toxinas son patogénicas solo para el hospedante que es sensible a estos compuestos. Dentro de las toxinas producidas por esta especie se destacan AAL, AM, AK, AF y ACT producidas por los patotipos de *A. alternata* patógenos de tomate, manzana, pera asiática Nashi, frutilla y mandarina, respectivamente. Estas toxinas se comportarían como factores de patogenicidad: las cepas de estos patotipos pueden perder la capacidad de producir la toxina hospedante-específica y cuando esto ocurre también pierden su facultad para provocar la infección/enfermedad. Las cepas incapaces de producir la toxina sobreviven en la naturaleza como saprófitos. En este último caso, la mutación que permita la adquisición de la capacidad de producir las toxinas resulta en su transformación en cepas patogénicas.

Se ha propuesto que estas toxinas específicas serían liberadas al momento de la germinación de las estructuras de reproducción de *A. alternata*, predisponiendo la susceptibilidad de las células del hospedante a partir de la supresión de las reacciones de defensa y favoreciendo la penetración y la colonización inicial del patógeno. Estas toxinas ejercerían su actividad principalmente sobre tres organelas de las células vegetales: la membrana plasmática, las mitocondrias y los cloroplastos. A partir del contacto con estas organelas las toxinas ocasionarían distintos efectos fisiológicos y bioquímicos en las plantas susceptibles, que frecuentemente culminarían con la inducción del proceso de muerte celular programada.

Toxinas no específicas

Dentro de esta clasificación se encuentran las toxinas capaces de inducir al menos una parte de los síntomas que causa el patógeno que las produce, tanto en plantas hospedantes como en las que no lo son. Varias de las toxinas no selectivas se han estudiado no solo por su efecto a diferentes niveles en las plantas hospedantes de los patógenos que las producen, si no también por su uso potencial como herbicidas biológicos, lo que ayudaría a reducir la aplicación de químicos y el riesgo inherente que trae consigo la liberación en el campo de microorganismos biorreguladores de malezas.

Las toxinas producidas por los distintos patovares de la bacteria *Pseudomonas syringae* constituyen ejemplos de toxinas no específicas. Esta especie tiene un amplio rango de hospedantes y sus patovares producen distintas toxinas involucradas en las enfermedades que ocasionan. En los tejidos vegetales infectados, estos metabolitos, pueden inducir síntomas cloróticos (como los ocasionados por la faseolotoxina y la tabtoxina) o necróticos (como los causados por la siringomicina).

Una de estas toxinas, la siringomicina, es requisito para la patogenicidad en algunos hospedantes como el maíz o el caupí, aunque su rol como factor de patogenicidad o de

virulencia no está clarificado aún. Este metabolito fitotóxico actúa realizando canales iónicos en la membrana plasmática y provocando, en consecuencia, la alteración en el transporte de iones y la pérdida de electrolitos del interior de las células, hecho que conduce a la muerte de los tejidos. A partir de esto, se explica la capacidad de esta especie bacteriana en inducir necrosis en los cultivos hospedantes.

La faseolotoxina, producida por *P. syringae* pv. *phaseolicola*, se ha identificado como un factor de virulencia asociado con la ocurrencia de síntomas cloróticos en distintas especies de leguminosas. Esta toxina es móvil, dispersándose desde el sitio de infección hacia el ápice y las hojas en expansión, en los que retrasa el crecimiento y disrumpe la dominancia apical. El patógeno causa un tizón en especies de leguminosas caracterizado por la presencia de un halo clorótico, clorosis sistémica y dispersión de la bacteria. Las cepas de esta especie pueden o no producir el síntoma de halo clorótico. Aquellas que no lo provocan producen niveles muy bajos de la toxina faseolina mientras que aquellas que lo inducen generan grandes cantidades de esta toxina. Aunque las razas 1 y 2 de *P. phaseolicola* tienen la capacidad de producir faseolina, estas variantes difieren en su rango de hospedantes por lo que se ha propuesto que esta toxina sería no específica y un factor de virulencia.

La tabtoxina es una toxina no específica de amplio espectro; fue la primera fitotoxina bacteriana en ser reportada en el año 1925. Esta sustancia es producida por *P. syringae* pv. *tabaci*, agente causal del fuego salvaje o quemazón del tabaco. La enfermedad se caracteriza por la presencia en las hojas afectadas de pequeñas manchas necróticas conteniendo células bacterianas rodeadas por un halo clorótico libre de bacterias. Este metabolito secundario fue descubierto y aislado bajo condiciones in vitro sobre plantas de tabaco en las cuales reprodujo los característicos síntomas cloróticos causados por el patógeno. Posteriormente, se determinó que la toxina era capaz de reducir el contenido de clorofila en los tejidos vegetales. Además de con la quemazón, esta toxina ha sido asociada con la producción de síntomas en diversas enfermedades bacterianas de los cultivos de avena y leguminosas ocasionados por patovares de *P. syringae*, en las que la aplicación de la toxina en forma exógena induce la aparición de patologías similares a las de estas enfermedades. La toxina es considerada un importante factor de virulencia para estas enfermedades, con un rol preponderante en la alteración del metabolismo de las plantas hospedantes.

Tabla 1: Toxinas no específicas, géneros bacterianos que las producen y sus efectos en plantas.

TOXINA	GÉNERO BACTERIANO	EFFECTO FITOTÓXICO
Tabtoxina	<i>Pseudomonas</i> spp.	Clorosis
Faseolotoxina	<i>Pseudomonas</i> spp.	Clorosis
Siringomicina	<i>P. syringae</i>	Necrosis

Otras toxinas no selectivas producidas por bacterias fitopatógenas son la iturina y surfantina, producidas por *Bacillus* spp.; la coronatina y la tagetitoxina, sintetizadas por distintos

patovares de *P. syringae* y por *P. syringae* pv. *tagetis* respectivamente, que se caracterizan por originar un halo clorótico en los tejidos vegetales; la rhizobitoxina, producida por *Rhizobium japonicum*, que provoca clorosis apical en plantas de soja; la fervenulina y toxoflavina, producidas por *P. glumae* y la albicidina producida por *Xhantomonas albilineans*, que inhibe el desarrollo de los cloroplastos e interrumpe la fotosíntesis.

Algunos hongos fitopatógenos también producen toxinas no selectivas capaces de inducir parte de los síntomas que caracterizan a la enfermedad. Entre las especies que sintetizan estos metabolitos se encuentran: *Rhizopus* spp. (ácido fumárico), *Sclerotium rolfsii* y *Sclerotinia sclerotiorum* (ácido oxálico), *Pyricularia oryzae* (piricularina), *Colletotrichum fuscum* (coletotina), *Myrothecium roridum* (roridina), *Stemphylium botryosum* (estemfilina y estemfiloxina), y algunas especies del Reino Stramenopila, tales como *Phytophthora* spp. De la mayoría de estos compuestos, se conoce su estructura química pero existe poca información acerca de su modo de acción.

Otro grupo de toxinas no específicas lo constituyen muchos de los metabolitos secundarios producidos por *Alternaria* spp. Se conocen cerca de 30 toxinas no selectivas producidas por especies de este género. Algunas de ellas son el ziniol, el homoziniol, el ácido alternárico, el ácido tenuazónico, el monometil alternariol éter, la tentoxina, la curvularina, alterotoxinas y dos compuestos tipo destruxina. La tentoxina producida por *Alternaria alternata* es una de las moléculas que mayor atención ha recibido. Esta toxina, como muchas otras no selectivas, induce clorosis reversible en plántulas de muchas especies y a nivel celular inhibe la síntesis de ATP a concentraciones muy bajas.

Micotoxinas

Las micotoxinas son un grupo particular de compuestos del metabolismo secundario producidos por hongos que pueden ocasionar efectos deletéreos para la salud de los seres humanos y animales de granja que se alimenten de los productos contaminados. El término fue acuñado en 1962 como consecuencia de una crisis veterinaria inusual que tuvo lugar cerca de Londres, Inglaterra y que culminó con la muerte de aproximadamente 100 mil pavos. Debido a la naturaleza desconocida de la enfermedad, se la llamó enfermedad "X". Con posterioridad, distintas investigaciones relacionaron estas muertes con el consumo de raciones de maní contaminadas con metabolitos secundarios de *Aspergillus flavus*. Esta situación alertó a los científicos sobre la posibilidad de que estos y otros metabolitos fúngicos pudieran resultar mortales para los animales de granja.

Aunque todas las micotoxinas son de origen fúngico, no todos los compuestos tóxicos producidos por los hongos son micotoxinas. La condición común a todas las micotoxinas es que son producidas por hongos y son tóxicas para los vertebrados y otros grupos de animales en bajas concentraciones. Así, otros metabolitos fúngicos de bajo peso molecular que resultan tóxicos solo en altas concentraciones (como el etanol) no se consideran micotoxinas. Por otra parte, a pesar de que son metabolitos que pueden ocasionar enfermedad o la muerte en el hombre y otros animales, los venenos de origen fúngico son

también excluidos de la discusión sobre micotoxicología. Esta exclusión se debe a que, mientras que las micotoxinas son producidas por hongos microscópicos, los venenos son producidos por hongos macroscópicos (como aquellos que producen los hongos de sombrero). La distinción entre micotoxinas y veneno también se fundamenta en la intención humana que guía su consumo: mientras que la exposición a las micotoxinas es casi siempre accidental, los venenos son generalmente ingeridos por error por recolectores de hongos comestibles inexpertos.

En resumen, las micotoxinas pueden ser definidas como productos naturales del metabolismo secundario de hongos filamentosos de bajo peso molecular que en bajas concentraciones resultan tóxicas para el hombre y otros animales.

Las micotoxinas no solo son difíciles de definir, también presentan dificultades para su clasificación. Estos compuestos constituyen un grupo heterogéneo de compuestos de variada toxicología y naturaleza química, que se agrupan solamente porque pueden causar enfermedad o muerte a los seres humanos y otros vertebrados. Así, los clínicos frecuentemente organizan a las micotoxinas en función del órgano afectado, los biólogos celulares según su efecto (teratógenas, mutagénicas, carcinogénicas y alergénicas), los químicos orgánicos de acuerdo con su estructura química (lactonas, cumarinas, etc.), los bioquímicos según sus grupos biosintéticos (poliquetonas, derivadas de aminoácidos, etc.), los médicos por la enfermedad que producen (fuego de San Antonio, estaquibotriotoxicosis, etc.) y los micólogos por los géneros y especies fúngicas que las producen (*Aspergillus*, *Penicillium*, etc.). Ninguna de estas clasificaciones resulta completamente satisfactoria. Actualmente, y dependiendo de la definición que se considere, unos 300 a 400 compuestos producidos por un número similar de especies fúngicas pertenecientes a 46 géneros son reconocidos como micotoxinas.

Las toxinas fúngicas han sido detectadas en varios alimentos de distintas partes del mundo y han sido reconocidas como uno de los contaminantes más peligrosos de los alimentos y forrajes. Según estimaciones de la FAO, aproximadamente el 25% de los cultivos mundiales son contaminados por hongos y afectados por micotoxinas con pérdidas que se estiman en miles de millones de dólares.

Aproximadamente una docena de grupos de micotoxinas reciben atención regular como amenazas a la salud humana y animal, siendo cinco los grupos de mayor importancia para la producción agropecuaria: las aflatoxinas, la ocratoxina, la zearalenona (ZEA), las fumonisinas (FUM) y el grupo de los tricotecenos. Muchas de estas micotoxinas se producen con anterioridad a la cosecha y se denominan toxinas “de campo”, mientras que otras se producen con posterioridad a esta y se denominan “toxinas de almacenamiento”, aun cuando la fuente original de estos microorganismos es el campo. Las aflatoxinas y la ocratoxina constituyen micotoxinas de almacenamiento, mientras que la zearalenona, las fumonisinas y los tricotecenos son micotoxinas de campo.

Actualmente, esta diferenciación entre micotoxinas “de campo” y “de almacenamiento” no se considera tan estricta, y se ha propuesto distinguir entre cuatro tipos de hongos micotoxigénicos: (i) los patógenos vegetales como *Fusarium graminearum*; (ii) los hongos que crecen y producen micotoxinas en plantas senescentes o estresadas, como *F. verticillioides* y

Aspergillus flavus; (iii) los hongos que inicialmente colonizan la planta en el campo pero que incrementan la contaminación con micotoxinas con posterioridad a la cosecha, como *A. flavus*; y (iv) los saprófitos que normalmente se encuentran en el suelo o en los restos de cosecha en el campo y que, luego de contaminar los cultivos en el campo, proliferan en el almacenamiento cuando las condiciones les son favorables, como *Penicillium verrucosum* y *A. ochraceus*.

Los hongos micotoxigénicos, bajo condiciones ambientales favorables, pueden prosperar en casi todas las condiciones climáticas del mundo y sobre cualquier soporte sólido o líquido. Sin embargo, la naturaleza y la cantidad de micotoxinas producidas está influenciada por las interacciones entre diferentes factores como el tipo de sustrato sobre el que crecen los hongos que las producen, el contenido de humedad, los nutrientes disponibles, la temperatura, la humedad del ambiente, la madurez de la colonia fúngica, la coocurrencia de otros hongos, la competencia con otros microorganismos, factores de estrés, daños físicos del sustrato debidos a la actividad de insectos, entre otros. Una vez producidas, las micotoxinas pueden almacenarse en todas las partes de la colonia fúngica, incluyendo hifas, micelio, esporas y el sustrato en el que el microorganismo se encuentre creciendo.

La invasión de estos hongos antes de la cosecha es regida primariamente por la interacción planta-hospedante y por otras interacciones biológicas. El desarrollo de los microorganismos que crecen con posterioridad a la cosecha, por su parte, está condicionado por los nutrientes del grano y por factores físicos y bióticos presentes durante el almacenamiento (temperatura, humedad, insectos, etcétera). La cosecha, secado, manejo, empaque, almacenamiento y transporte inadecuados, contribuyen al crecimiento fúngico e incrementan los riesgos de producción de micotoxinas y la producción de micotoxinas por una especie en particular depende completamente de la ocurrencia de condiciones de cultivo y/o almacenamiento óptimas para su producción. Por ejemplo, ha sido reportado que las especies del género *Fusarium* asociadas con la leucopenia tóxica alimentaria pueden proliferar a temperaturas entre 25 y 30°C sin producir ninguna micotoxina, pero a temperaturas cercanas al punto de congelamiento producen grandes cantidades de estos compuestos casi sin crecimiento de micelio.

A pesar de que los efectos tóxicos de las micotoxinas en las especies animales han sido ampliamente estudiados, poco se conoce sobre su fitotoxicidad y modo de acción en los hospedantes vegetales de los hongos que las producen. Muchas de las especies de hongos micotoxigénicos más importantes no son fitopatógenos. Sin embargo, se ha propuesto que los metabolitos que estas producen podrían afectar la calidad de la semilla, su germinación, viabilidad y vigor, y el crecimiento de la raíz y el coleoptile. Otros géneros productores de micotoxinas, como *Fusarium*, incluyen numerosas especies fitopatógenas causantes de marchitamientos, podredumbres y tizones. En estas especies, la acumulación de micotoxinas en los tejidos del hospedante podría estar asociada al desarrollo de los síntomas de la enfermedad que ocasionan.

Micotoxicosis

Las micotoxicosis son las enfermedades causadas por las micotoxinas mientras que la micotoxicología es el estudio de las micotoxinas. La mayoría de las micotoxicosis resultan del consumo de alimentos contaminados. El contacto cutáneo con sustratos infectados por hongos y la inhalación de toxinas contenidas en las esporas son también fuentes importantes de exposición. Una de las características compartidas entre las micosis y las micotoxicosis es que ninguna de ellas es transmisible de persona a persona.

Se encuentran disponibles reportes en los que el consumo de alimentos o piensos contaminados con micotoxinas es el responsable de síndromes tóxicos en humanos y ganado, ocasionando micotoxicosis agudas o crónicas. La toxicidad aguda generalmente se desencadena rápidamente y tiene una respuesta tóxica evidente, mientras que la toxicidad crónica se caracteriza por exposiciones prolongadas de dosis bajas, resultando en la ocurrencia de cánceres y otros efectos generalmente irreversibles. Las micotoxicosis agudas ocurren cuando las condiciones meteorológicas que favorecen el crecimiento de hongos micotoxigénicos se combinan con las condiciones sociales y económicas que favorecen el consumo de alimentos contaminados.

Los principales efectos sobre la salud de la exposición de hombres y animales a las micotoxinas se relacionan con la exposición crónica a estos compuestos (por ejemplo, la inducción de cáncer, la toxicidad a los riñones, la supresión inmune). Sin embargo, los episodios de exposiciones a micotoxinas más conocidos son manifestaciones de efectos agudos (la enfermedad "X" de los pavos, el ergotismo, etc.).

Históricamente, la micotoxicosis más reconocida es el ergotismo. Esta enfermedad es también conocida como "Fuego de San Antonio", "fuego sagrado (*Ignis sacer*)", o "enfermedad del fuego", y sus primeros registros se remontan al Antiguo Testamento. Numerosas epidemias de esta micotoxicosis ocurrieron entre los siglos VIII y XVI y la posible razón ha sido atribuida a condiciones alimenticias pobres, particularmente el consumo de harinas contaminadas con esclerocios. En la modernidad, la primera intoxicación aguda reconocida fue reportada en Francia durante 1954, cuando un gran número de personas fueron víctimas del ergotismo mientras que la última epidemia de ergotismo gangrenoso registrada, que afectó a cerca de 140 individuos de los cuales el 34% murió, ocurrió en Etiopía durante 1977 y 1978. Otra micotoxicosis que no ha sido reportada en décadas es la leucopenia tóxica alimentaria, que fue común durante los años 1932 a 1947 en la ex Unión Soviética. La enfermedad fue causada por tricotecenos producidos por especies de *Fusarium* y fue responsable de la muerte de cerca de 100 mil personas. Actualmente, estos casos de intoxicación fúngica pueden causar la muerte de los animales, pero rara vez resultan fatales para el hombre. Las aflatoxinas, fumonisinas y los alcaloides del ergotismo están asociados a la ocurrencia de micotoxicosis agudas en animales y ganado.

Los síntomas de una micotoxicosis dependen del tipo de micotoxina, la cantidad y duración de la exposición, la edad, salud y sexo del individuo expuesto, y muchos efectos sinérgicos poco comprendidos que involucran la genética, estado dietario e interacciones con otros compuestos tóxicos. Por su parte, las micotoxicosis pueden aumentar la vulnerabilidad

a enfermedades microbianas, empeorar los efectos de la desnutrición e interactuar en forma sinérgica con otras toxinas.

Los síntomas más comunes relacionados con las micotoxicosis en humanos son los vómitos, diarrea y otros problemas gastrointestinales asociados. En general, las micotoxinas son reconocidos supresores del sistema inmune. Este tipo de efectos pueden ser ocasionados principalmente por los tricotecenos, que pueden reducir la inmunidad al inhibir la síntesis de proteínas y la proliferación celular. Además de ser altamente tóxicas, algunas micotoxinas se relacionan con una mayor incidencia de ciertos tipos de cáncer y de desórdenes neurológicos. Esta característica ha generado preocupación sobre los aspectos de seguridad del consumo de alimentos y piensos contaminados, especialmente en el caso de leche y sus derivados.

En los animales, las micotoxinas ocasionan un amplio rango de efectos nocivos como la reducción de la productividad animal, la creciente incidencia de enfermedades debidas a la inmunosupresión, daño a órganos vitales e interferencia con la capacidad reproductiva. En algunos casos extremos puede ocurrir la muerte. Las micotoxinas producidas en los piensos generalmente causan irritación del tracto digestivo y son capaces de reducir la absorción de nutrientes. Cuando los alimentos contaminados son ingeridos por un animal, usualmente interfieren con los sistemas endocrino y exocrino.

Para comprender la biología de las micotoxinas, resulta crítico apreciar que los órganos o sistemas que resultan predominantemente afectados pueden diferir sustancialmente entre especies. Esto hace más difícil diseccionar las vías moleculares implicadas en la patogénesis. Por ejemplo, las fumonisinas causan la leucoencefalomalacia en caballos, toxicidad nefrotóxica y hepatotóxica en roedores, hepatotoxicidad, disfunción ventricular y edema pulmonar severo en cerdos, y cáncer esofágico en humanos.

Se considera generalmente que las poblaciones de países desarrollados están menos expuestas a las micotoxinas que las de países en vías de desarrollo. Esto puede atribuirse a distintos factores: aplicación de tecnologías modernas de manejo y preservación de alimentos, así como la existencia de regulaciones gubernamentales y controles comerciales de la calidad y seguridad de los alimentos. En general, la exposición a las micotoxinas es más común en lugares del mundo en los que son frecuentes los métodos de manipulación y almacenamiento de alimentos incorrectos, donde la malnutrición es un problema, y donde existen pocas regulaciones para proteger a la población de la exposición.

Sin embargo, incluso el monitoreo y la aplicación de buenas prácticas agrícolas y de manufactura pueden no ser suficientes para eliminar o evitar completamente la presencia de micotoxinas en la cadena de producción de alimentos. Debido a que las micotoxinas son contaminantes naturales de los alimentos, su formación es frecuentemente inevitable. Las micotoxinas pueden entrar en la cadena directamente a partir de productos vegetales como los cereales, el café, las oleaginosas, las especias, los frutos y las bebidas e indirectamente a partir de los alimentos suministrados al ganado (pasturas, piensos) contaminados con micotoxinas, que pueden dejar residuos en la leche, la carne y otros productos. Los métodos para el control de las micotoxinas son fundamentalmente preventivos. Incluyen el uso de

buenas prácticas agrícolas, la prevención de la contaminación antes de la cosecha y el secado adecuado de los cultivos luego de la cosecha.

De acuerdo con las condiciones ambientales y de producción, la importancia de las micotoxinas puede variar entre los distintos países o regiones. Así, mientras que en Medio Oriente y Norte de África, las micotoxinas que prevalecen son las fumonisinas y la zearalenona; en el África subsahariana las más comunes son las fumonisinas y el DON y en África del sur el DON, las fumonisinas y la ZEA. En China y Taiwán los alimentos y raciones se encuentran mayormente contaminados con fumonisinas, DON y ZEA, en Asia del Sur con aflatoxinas y ocratoxina, en el Sudeste asiático con fumonisinas, en el este asiático con DON, ZEA y fumonisinas. En Europa, ZEA y DON predominan en el este, DON en el norte, y DON y fumonisinas en el centro y el sur. El DON y las fumonisinas, por su parte, son las micotoxinas que prevalecen en todo el continente americano.

Tabla 2: Micotoxinas de importancia para la producción agropecuaria, géneros fúngicos que las producen y sus efectos en humanos y/o animales.

MICOTOXINA	GÉNEROS FÚNGICOS	EFEECTO
Aflatoxinas	<i>Aspergillus</i> spp.	Hepatotóxico, carcinogénico y teratogénico
Ocratoxina	<i>Aspergillus</i> spp., <i>Petromyces alliaceus</i> , <i>Penicillium verrucosum</i>	Nefrotóxico, hepatotóxico y carcinogénico
Zearalenona	<i>Fusarium</i> spp.	Estrogénico
Tricotecenos	<i>Fusarium</i> spp.	Hepatotóxico. Inhibición de la síntesis de proteínas
Fumonisinias	<i>Fusarium</i> spp.	Hepatotóxico y nefrotóxico

Principales micotoxinas

Aflatoxinas

El descubrimiento de las aflatoxinas revolucionó la investigación sobre hongos y metabolitos fúngicos debido a su potencial como toxina y carcinógeno. Estas toxinas fueron descubiertas luego de la epidemia de la enfermedad "X" de los pavos.

Estas toxinas son producidas por hongos pertenecientes a distintas especies de *Aspergillus*, fundamentalmente *A. flavus* y *A. parasiticus*. Cerca de 18 tipos diferentes de aflatoxinas han sido identificados. *Aspergillus flavus* produce mayormente las aflatoxinas B1 y B2, mientras que *A. parasiticus* produce las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2. La aflatoxina B1 es la micotoxina más tóxica dentro de este grupo de compuestos.

Se ha propuesto que las aflatoxinas inhiben la síntesis de clorofila, resultando en virecencia o albinismo en las plantas afectadas. A mayores concentraciones de aflatoxina B1, la inhibición del alargamiento de raíces y tallos se vio acompañada por modificaciones ultraestructurales como el desordenamiento de los constituyentes citoplasmáticos, la disolución de las membranas, (particularmente del tonoplasto), la pérdida de ribosomas, la disrupción de organelas y la desaparición del retículo endoplasmático. Las aflatoxinas inhiben la actividad de polimerasas que dependen del anclado al ADN. La inhibición de la síntesis proteica se ha atribuido a la escasez de ARNm, mientras que la inhibición de la síntesis de ADN fue el resultado de la unión de las aflatoxinas al ADN durante su replicación o a la inhibición de la ADN polimerasa.

Entre los animales, los monogástricos como las aves de corral o los cerdos presentan mayor riesgo de contaminación por aflatoxinas, ya que gran parte de su dieta consiste en cereales. En las aves, las aflatoxinas provocan daños hepáticos, inciden en la eficiencia reproductiva y en su producción. Los cerdos son menos sensibles que las aves, pero también en ellos las aflatoxinas provocan daños en el hígado. En los vacunos se observan lesiones en hígado y riñón, disminución de la productividad, y reducción del peso y de la producción de leche.

En el hombre, las aflatoxinas provocan daños hepáticos y la Agencia Internacional para Investigación sobre Cáncer (IARC) las identificó como compuestos carcinogénicos, incluyéndolas dentro de la clase 1. Han sido asociadas como co-carcinógenos, junto con la hepatitis B, en la alta incidencia de cáncer de hígado en algunas regiones de África y del sur de Asia. Las aflatoxinas pueden también causar envenenamiento agudo, como el que tuvo lugar en Kenia en abril de 2004, cuando el consumo de maíz contaminado con aflatoxinas afectó a 317 personas y causó 125 muertes, y en India en 1974 cuando un hecho similar resultó en la ocurrencia de 397 casos confirmados y 106 muertes.

Aunque las aflatoxinas pueden contaminar casi cualquier alimento, son prevalentes en las frutas secas y el maíz. Prácticamente cualquier grano puede desarrollar altas concentraciones de aflatoxinas durante el almacenamiento a altos porcentajes de humedad, pero los cultivos estivales (particularmente las frutas secas, el maíz, el sorgo, el arroz, algunas oleaginosas y el coco) son mucho más susceptibles que los cultivos invernales (como el trigo y la cebada) debido a que los hongos productores de aflatoxinas son malos competidores frente a otros hongos en condiciones más frías y húmedas.

Este grupo de micotoxinas está regulado internacionalmente, estableciéndose niveles de límites admisibles de su presencia en los alimentos. La Food and Drug Administration (FDA) ha establecido límites de entre 20 y 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de aflatoxinas dependiendo de si su destino es la alimentación humana, o animal. Para el comercio internacional, existe una gran variación en la tolerancia a la contaminación con aflatoxinas fijada por los diferentes países, encontrándose comúnmente en valores entre 5 y 50 ppb. En Argentina, las aflatoxinas se encuentran reguladas por el Código Alimentario que establece límites de entre 0 y 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para la comercialización de alimentos contaminados con estas micotoxinas, dependiendo de su destino.

Las buenas prácticas agrícolas (por ejemplo, la adecuada humedad, el control de malezas o la rotación de cultivos) son generalmente consideradas el mejor método de control de la contaminación por aflatoxinas. El manejo de la irrigación es un método efectivo de control de estas micotoxinas, sin embargo, el maní, por ejemplo, es un cultivo resistente a la sequía que normalmente se cultiva en condiciones de secano. Las cosechas tempranas pueden reducir la contaminación, mientras que el secado rápido de los granos tiene un gran impacto en la reducción de los niveles de aflatoxinas. Los insectos están frecuentemente relacionados con la acumulación de aflatoxinas en el maíz, por lo que el cultivo de genotipos Bt resulta beneficioso. Los granos almacenados bajo condiciones de alta humedad (>14%) y temperatura (>20 °C) y/o inadecuadamente secados pueden resultar potencialmente contaminados. Para evitar el riesgo de contaminación con aflatoxinas, los granos deben mantenerse secos, libres de daño y de insectos.

Ocratoxina

Las ocratoxinas son un grupo de metabolitos tóxicos producidos por los hongos *A. ochraceus*, *A. niger*, *Penicillium verrucosum*, *P. nordicum* y *Petromyces alliaceus*. Son toxinas que se producen durante el almacenamiento de productos frescos tales como café, cereales, frutos secos y de vez en cuando en viñedos. La ocratoxina A (OTA) es la más tóxica y fue descubierta en 1965 durante una investigación sobre metabolitos fúngicos cuya finalidad era identificar nuevas micotoxinas. En climas templados la OTA es producida por especies de *Penicillium*, mientras que *Aspergillus* spp. son responsables de su producción en regiones tropicales.

La ocratoxina A es una nefrotoxina que es causal de hipertrofias, acumulación de ácido úrico y cáncer en animales de laboratorio y cerdos, y de acuerdo a estudios realizados en animales ha sido clasificada como posible carcinogénico en humanos. En aves se observa reducción en el peso, escasa producción de huevos, disminución de la pigmentación, alteración en los procesos de coagulación sanguínea e inmunosupresión.

Debido a su gran afinidad por las proteínas, en particular la albúmina, la OTA se acumula en los órganos de los animales y puede causar una contaminación persistente. En los cerdos, la exposición a bajos niveles de esta toxina provoca daños en riñón, con consecuentes desequilibrios bioquímicos y hematológicos. Con concentraciones superiores a 2 µg/g de alimento decrece la ganancia en peso. El ganado vacuno es el más resistente a la ocratoxina.

La exposición a esta micotoxina es común en la población del Este de Europa, y en consecuencia pueden encontrarse concentraciones detectables de ocratoxina en sangre en personas sanas. En Alemania, este metabolito también ha sido hallado en cerveza, café, vino y jugos de uva, siendo responsable de la alta incidencia de nefropatías que presenta su población.

En la Unión Europea, se han establecido algunos límites reglamentarios para los niveles de OTA en productos alimentarios como granos de cereales crudos (5 µg/kg), productos derivados de los cereales (3 µg/kg), frutos secos (10 µg/kg), café tostado y derivados del café (5 µg/kg), jugo de uva (2 µg/kg) y también para todo tipo de vino (2 µg/kg).

Esta micotoxina es muy estable, y resiste los procedimientos comunes de preparación de alimentos. Para poder reducir su concentración, son necesarias temperaturas superiores a 250 °C durante varios minutos.

Zearalenona

La ZEA fue aislada por primera vez en la década de 1960 al observar síntomas en el sistema reproductivo de cerdos alimentados con maíz. Es sintetizada por especies del género *Fusarium*, tales como *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. semitectum*, *F. cerealis* y *F. sporotrichioides* en los cultivos de trigo maíz, cebada, avena, centeno y sorgo de todo el mundo, siendo el cultivo de maíz el de mayor riesgo de contaminación.

Es una toxina estructuralmente análoga a una hormona esteroidea sexual femenina que presenta la habilidad de unirse a los receptores de dichas hormonas, provocando alteraciones en el tracto reproductivo de los animales que la consumen. Los síntomas provocados por el consumo de ZEA incluyen hiperestrogenismo, agrandamiento del útero, y prolapsos en animales de granja (bovinos, ovinos y porcinos). Los animales más sensibles a su exposición son los cerdos. En humanos se relaciona con el desarrollo de síndromes hipoestrogénicos y ha sido implicada en varios casos de pubertad precoz en niños.

En términos generales, la ecología de la producción de ZEA es similar a la de DON. Como consecuencia, la ocurrencia y el control son similares. Generalmente, las especies de *Fusarium* crecen en ambientes húmedos, con un rango de temperaturas entre 20 y 25 °C e invaden los cultivos bajo estas condiciones favorables.

En Argentina se ha establecido un límite de 20 µg/kg en alimentos a base de cereales para lactantes y niños pequeños y de 50 µg/kg en cereales para desayuno.

Tricotecenos

Los tricotecenos se encuentran entre las micotoxinas más importantes a las que se ve expuesta el ser humano. Más de 350 especies de hongos han sido descritas como potencialmente productoras de estas micotoxinas. Sin embargo, solo unos pocos tricotecenos producidos por un pequeño grupo de géneros fúngicos han sido identificados como contaminantes de alimentos o han estado implicados en casos de micotoxicosis humana o animal. En este sentido, el género *Fusarium* incluye las especies productoras de más del 80% de estas toxinas.

Las especies de *Fusarium* productoras de tricotecenos se encuentran ampliamente distribuidas en el mundo y pueden contaminar una amplia variedad de alimentos crudos y procesados. Los tricotecenos más importantes asociados a la ocurrencia de micotoxicosis en humanos y animales son el diacetoxiscirpenol (DAS), las toxinas T-2 y HT-2, el nivalenol (NIV) y el deoxinivalenol (DON), que son producidos por *F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. cerealis*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. poae*, y *F. sporotrichioides*. De acuerdo con la presencia de distintos grupos funcionales en los carbonos de su estructura básica de doble anillo, los

tricotecenos se dividen en cuatro grupos (A-D), siendo los de los grupos A y B los más importantes para la producción agropecuaria. Dentro de los tricotecenos del grupo A se encuentran el DAS y las toxinas T-2 y HT-2, mientras que entre los del grupo B se encuentran el DON y el NIV.

La toxicidad aguda de los tricotecenos, su producción en tejidos infectados, y su síntesis por parte de hongos fitopatógenos evidencian que estos compuestos cumplen un rol en el desarrollo de distintas enfermedades de las plantas. Estas micotoxinas inducen marchitamientos, clorosis, necrosis y retardo del crecimiento en una amplia variedad de tejidos vegetales. Como consecuencia, estas toxinas median en la ocurrencia de un amplio rango de enfermedades de las plantas, incluyendo tizones, marchitamientos y podredumbres en numerosas especies de cereales y ornamentales. Estos compuestos actúan como inhibidores de la traslación, suprimiendo la respuesta de las plantas hospedantes al ataque de los hongos que las producen.

El rol del DON en la patogénesis ha sido estudiado en profundidad. Este compuesto constituye un factor de virulencia de las especies de *Fusarium* que lo producen hacia el trigo y otros cereales. Es producido principalmente por *F. graminearum* y *F. culmorum*, que son los principales patógenos asociados con la Fusariosis de la espiga (FE) en trigo y otros cereales de invierno y de la podredumbre de la espiga en maíz. Se ha encontrado una correlación directa entre la cantidad de inóculo primario en los rastrojos, la incidencia de la FE y la contaminación de los granos con tricotecenos del grupo B. Estos compuestos serían traslocados en los tejidos de la planta una vez desencadenada la infección y con anterioridad a su colonización por parte del patógeno. Mutantes de *F. graminearum* no productores de DON han demostrado una menor virulencia en comparación de las cepas silvestres. Estos mutantes no vieron afectada su capacidad de iniciar la infección de la espiga, pero han visto inhibida su propagación en la misma.

A pesar de que los casos agudos asociados al consumo de alimentos contaminados con tricotecenos son raros, estos compuestos han estado relacionados con un pequeño número de epidemias desde su descubrimiento. Entre ellas, las más importantes fueron la leucopenia tóxica alimentaria, la enfermedad de Urov o Kashin-Beck, y el Akakabi-byo. Estos compuestos, y particularmente la toxina T-2, el DON y el NIV, han sido relacionados con la utilización de armas de guerra química conocidas como "lluvia amarilla" en el sudeste asiático. A pesar de que no existen registros de epidemias de micotoxicosis agudas asociadas al consumo de estos compuestos en años recientes, en años con condiciones ambientales predisponentes para el desarrollo de la FE la exposición a estos compuestos puede exceder los límites tolerables.

Las exposiciones agudas a tricotecenos del grupo A producen lesiones gástricas e intestinales, efectos inmunosupresivos, daños al sistema nervioso central asociados con la ocurrencia de anorexia, cansancio y náuseas, supresión de la actividad de los órganos reproductivos, y efectos vasculares agudos relacionados con la hipotensión. Los tricotecenos del grupo B presentan una toxicidad aguda menor. Sin embargo, las contaminaciones con DON y NIV son más frecuentes en los alimentos que las contaminaciones con tricotecenos del grupo A. Los humanos son considerablemente sensibles al DON, que ocasiona una

variedad de efectos inmunológicos. Manifestaciones comunes de su ingesta son la anorexia, la disminución de la respuesta inmune, náuseas y vómitos. La intoxicación severa con DON puede ocasionar necrosis en el tracto gastrointestinal, de la médula ósea y los tejidos linfáticos y ha sido relacionada con la ocurrencia de enanismo infantil. Entre los animales domésticos, el cerdo es el más sensible a esta micotoxina. Como consecuencia de sus efectos, esta toxina es también conocida como "vomitoxina".

Los tricotecenos presentan una gran estabilidad y son resistentes al hervor y la panificación. Como consecuencia, pueden ser encontrados no solo en los cereales crudos si no también en panes y masas, pasta, cerveza y cereales de desayuno, entre otros productos. Como consecuencia, los tricotecenos se encuentran entre los contaminantes de alimentos más frecuentemente reportados y el DON es no solo el compuesto más relevante del grupo, si no que probablemente sea la micotoxina más importante en términos de exposición humana. Este tricoteceno ha sido detectado como un contaminante frecuente en trigo, maíz y cebada (cultivos que constituyen dos tercios de la producción mundial de granos) así como en alimentos procesados obtenidos a partir de estos cereales. Como consecuencia, la exposición crónica al DON posiblemente ocurra en muchas regiones mundiales. Una serie de trabajos han sido desarrollados en Europa para estimar la exposición al DON de la población utilizando la cuantificación de la acumulación de este compuesto y sus metabolitos en la orina. En todos los casos estudiados, el DON ha sido detectado en más del 95% de las muestras analizadas, con entre un 5 y un 40% de las muestras con exposiciones que excederían la dosis diaria tolerable establecida por la Organización Mundial de la Salud.

En cuanto a regulaciones y límites, tanto la FDA como Canadá han establecido límites a la comercialización de alimentos contaminados con DON para su consumo. La presencia de DON en el trigo tiene además implicancias en la calidad panadera y fideera de las harinas. En Argentina, se han establecido recientemente límites de entre 200 - 1000 µg/kg a la comercialización de alimentos contaminados con DON.

Debido a la distribución mundial de las especies de *Fusarium* productoras de tricotecenos y al amplio rango de productos agropecuarios plausibles de ser contaminados con estas toxinas, su completa eliminación de la dieta humana y animal es un objetivo poco realista. La mejor estrategia para la reducción de la contaminación de los alimentos con tricotecenos es la aplicación de prácticas de prevención destinadas a reducir el impacto de la FE y la podredumbre de la espiga en el campo.

Fumonisin

Las FUM fueron descubiertas en 1988 por dos grupos de investigación que trabajaban independientemente: el primero, tratando de investigar la alta incidencia de cáncer esofágico presente en la población de Sudáfrica, y el segundo analizando la causa de la leucoencefalomalacia equina.

Esta toxina está presente en todas las áreas de producción del mundo, fundamentalmente en el cultivo de maíz aunque también ha sido encontrada en sorgo y arroz. Solamente se ven exceptuadas de su presencia las áreas productoras frías como Canadá. Son producidas

principalmente por los hongos fitopatógenos *F. verticilloides* y *F. proliferatum*. Estas especies son endémicas del maíz en todo el mundo y son endófitas en las plantas, por lo que pueden estar presentes en gran parte de las semillas y cultivos de maíz a lo largo de su crecimiento sin que se presenten síntomas visibles. Bajo condiciones climáticas de sequía o daño por insectos, estas especies desarrollan la podredumbre de la espiga y, junto con esta, la producción de FUM.

A baja concentración, las FUM pueden provocar daños en hígado y riñón, pues son almacenadas en estos órganos. Son carcinogénicas e inmunosupresoras en humanos y neurotóxicas en animales, provocando manifestaciones neurológicas anormales. Con una alta exposición a estas toxinas, la muerte puede ocurrir en pocas horas. Más de 28 tipos de FUM han sido aisladas y caracterizadas. De todas ellas, las FUM B1, B2 y B3, son las más comunes en la naturaleza y la FUM B1 es la más frecuentemente detectada en maíz a nivel mundial y la más comúnmente asociada a brotes de leucoencefalomalacia equina.

Estas toxinas, como otras, son estables durante el procesado y molienda de los alimentos. Han sido detectadas en polenta, tortillas, harina y copos de maíz, etc. Tampoco son destruidas durante los procesos de fermentación de las bebidas alcohólicas, al igual que las ocratoxinas.

Tabla 3: Regulación de Micotoxinas en la Unión Europea, Estados Unidos y Argentina en alimentos destinados al consumo humano

MICOTOXINA	LÍMITES MÁXIMOS PERMITIDOS		
	UNIÓN EUROPEA	ESTADOS UNIDOS	ARGENTINA
Aflatoxinas	4 - 10 µg/kg	20 µg/kg	5 - 20 µg/kg
Ocratoxinas	0,5 - 15 µg/kg	---	3 µg/kg
Zearalenona	75 µg/kg	---	20 - 50 µg/kg
Deoxinivalenol	200 - 1750 µg/kg	1000 µg/kg	200 - 1000 µg/kg
Fumonisinias	1000 µg/kg	2000 µg/kg	2000 µg/kg

Referencias

- Bennett, J. W., & Klich, M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3), 497–516.
- Bhat, R., Rai, R. V., & Karim, A. A. (2010). Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(1), 57–81.
- Código Alimentario Argentino. Capítulo 3: De los productos alimenticios. (2021).

- Fletcher, M. T., & Blaney, B. J. (2016). Mycotoxins. En: *Reference Module in Food Science*. Elsevier.
- Ismaiel, A. A., & Papenbrock, J. (2015). Mycotoxins: producing fungi and mechanisms of phytotoxicity. *Agriculture*, 5, 492–537.
- Malbrán, I., Mourellos, C. A., Girotti, J. R., & Lori, G. A. (2018). Trichothecenes. En D. Liu (Ed.), *Handbook of Foodborne Diseases* (First, pp. 977–986). CRC Press.
- Markham, J. E., & Hille, J. (2001). Host-selective toxins as agents of cell death in plant-fungus interactions. *Molecular Plant Pathology*, 2(4), 229–239.
- Miller, J. D. (1995). Fungi and mycotoxins in grains: implication for stored products research. *Journal of Stored Products Research*, 31(1), 1–16.
- Mitchell, R. E. (1984). The relevance of non-host-specific toxins in the expression of virulence by pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 22(1), 215–245.
- Pitt, J. I. (2013). Mycotoxins. En: J. G. J. Morris & M. E. Potter (Eds.), *Foodborne Infections and Intoxications* (Fourth, pp. 409–418). Academic Press.
- Resolución Conjunta 22/2019. Código Alimentario Argentino. Artículo 156 quater: límites para micotoxinas. (2019).
- Varios Autores (1991). Phytotoxins and their involvement in plant diseases. *Experientia*, 47(8), 751-826.
- Walton, J. D. (1996). Host-selective toxins: agents of compatibility. *Plant Cell*, 8(10), 1723–1733.
- Yoder, O. C. (1980). Toxins in pathogenesis. *Annual Review of Phytopathology*, 18(1), 103–129.