

Mohos en frutos secos de pistachero (*Pistacia vera* L.) y almendro [*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb] comercializados en Maracay, Venezuela

Marleny Chavarri*, Elva Pérez y Yelimar Pérez

*Instituto de Química y Tecnología, Laboratorio de Micotoxicología, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apdo. 4579. Maracay 2101. Aragua Venezuela

RESUMEN

Los frutos secos tienen gran valor energético y nutricional, pero son susceptibles a la colonización fúngica. Los mohos afectan tanto el rendimiento como la calidad de estos frutos, posibilitando su contaminación con micotoxinas. Por tal motivo, se detectó y cuantificó los mohos toxigénicos asociados a las semillas de pistacho y almendra. La cuantificación fúngica se realizó por siembra directa de cien semillas enteras y desinfectadas con NaClO al 1%, sobre el medio malta sal agar, expresando los resultados como porcentaje de semillas colonizadas por mohos totales y por especie toxigénica. Se calificó como incidencia fúngica baja entre 0 y 15%, intermedia entre 16 y 30% y alta mayor al 30%. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($\alpha: 0,05$) en la incidencia fúngica total y para las especies toxigénica aislada *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp., existiendo diferencias en *Penicillium expansum*, *Penicillium citrinum* y *Eurotium* sp. Las muestras de almendras presentaron alta incidencia fúngica total (39,5%) mientras que en pistacho fue baja (10,5%). De las especies aisladas en almendras, se encontró incidencia intermedia para *A. niger* y baja para *Eurotium* sp., *Aspergillus* sp., *A. flavus* y *A. ochraceus*. En pistachos, la incidencia fue baja para todas las especies aisladas: *A. niger*, *Aspergillus* sp., *P. expansum*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *P. citrinum* y *Penicillium* sp. Estos resultados pueden afectar la calidad de los frutos analizados y representar un potencial peligro para la salud por su posible contaminación con micotoxinas.

Palabras clave: almendras, incidencia, micotoxinas, mohos, pistachos, semillas.

Molds in pistachio (*Pistacia vera* L.) and almond dried fruits [*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb] marketed in Maracay, Venezuela

ABSTRACT

Dried fruits have great energy and nutritional value, but are susceptible to fungal colonization. Molds affect both the yield and the quality of these fruits, enabling their contamination with mycotoxins. For this reason, toxigenic molds associated with pistachio and almond seeds were detected and quantified. The fungal quantification was carried out by direct sowing of one hundred whole seeds and disinfected with 1% NaClO,

*Autor de correspondencia: Marleny Chavarri

E-mail: marlenycomomoto@gmail.com

on the agar salt malt medium, expressing the results as percentages of seeds colonized by total molds and by toxigenic species. It was rated as low fungal incidence between 0 and 15%, intermediate between 16 and 30% and high greater than 30%. A completely randomized design with four repetitions was used. No statistically significant differences (α : 0.05) were found in the total fungal incidence and for the isolated toxigenic species *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus* sp. and *Penicillium* sp., there being differences in *Penicillium expansum*, *Penicillium citrinum* and *Eurotium* sp. Almond samples showed high total fungal incidence (39.5%) while pistachio was low (10.5%). Of the isolated species in almonds, intermediate incidence was found for *A. niger* and low for *Eurotium* sp., *Aspergillus* sp., *A. flavus* and *A. ochraceus*. In pistachios, the incidence was low for all isolated species: *A. niger*, *Aspergillus* sp., *P. expansum*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *P. citrinum* and *Penicillium* sp. These results can affect the quality of the analyzed dried fruits and represent a potential health hazard due to their possible contamination with mycotoxins.

Key words: Almonds, incidence, mycotoxins, molds, pistachios, seeds.

INTRODUCCIÓN

Los frutos secos son alimentos que se caracterizan por tener baja actividad de agua (a_w), alto contenido de ácidos grasos Omega-3 y cantidades variables de proteínas A, E y del grupo B, además de minerales como el zinc, calcio, fósforo, magnesio, cobre, hierro, entre otros. Son altos en contenido de fibra, oligoelementos y antioxidantes, por lo que son alimentos completos, energéticos y nutricionales para los consumidores. Algunos de los alimentos que cumplen las características de frutos secos son las avellanas (*Corylus avellana* L.), nueces (*Juglans regia* L.), almendras [*Prunus dulcis* (Mill.) D.A Webb], maní (*Arachis hypogaeae* L.) y pistachos (*Pistacia vera* L.) (Salas *et al.*, 2005; Hernández y Zacconi, 2009.).

Las almendras y los pistachos tienen una gran demanda en el mercado de alimentos saludables y se vuelven cada vez más populares, ya que se ha demostrado en estudios epidemiológicos los efectos protectores del consumo de estos frutos, disminuyendo el riesgo de diferentes enfermedades cardiovasculares, produciendo un efecto positivo en el perfil lipoproteico al disminuir el colesterol total y las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en el plasma (Nus *et al.*, 2004; Alexiada y Katsilambros, 2011).

No obstante, los cultivos de almendro y pistachero están expuestos a la infestación fúngica, la cual ocurre durante o después de la cosecha, transporte, almacenamiento y procesamiento (Jogee *et al.*, 2012; Kazemi *et al.*, 2014). El desarrollo de mohos en estos alimentos, genera una serie de alteraciones que afectan las propiedades nutritivas y

organolépticas, conduciendo a una posterior pérdida económica (Jogee *et al.*, 2012). Adicionalmente, algunas especies fúngicas pueden sintetizar micotoxinas, siendo éstos metabolitos tóxicos que representan un grave problema para la salud pública a nivel mundial debido a que poseen efectos carcinogénicos, mutagénicos y teratogénicos (Abarca *et al.*, 2000; Krijgsheld *et al.*, 2013).

Existen más de 300 micotoxinas, siendo las aflatoxinas, fumonisinas y ocratoxinas las de mayor toxicidad para el hombre y los animales (Scussel, 1998). La toxicidad depende de las cantidades ingeridas, el tiempo de exposición y de las posibles sinergias que pueden derivarse de la ingestión de diferentes micotoxinas al mismo tiempo (Abrunhosa *et al.*, 2012). La presencia de mohos en un alimento no indica necesariamente una contaminación con micotoxinas pero si es un factor de riesgo para que ésta se sintetice (Chavarri, 2010; Chavarri *et al.*, 2013; Chavarri *et al.*, 2014; Camiletti *et al.*, 2017; Chavarri *et al.*, 2017).

En el ámbito mundial, se ha detectado alta incidencia de especies toxigénicas de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, y micotoxinas (aflatoxinas y ocratoxinas) en diversos frutos secos (almendras, pistachos, nueces, nuez del Brasil, maní, entre otros) provenientes de Latinoamérica, Estados Unidos de América, Europa central, Irán, Portugal, India, Argelia y Vietnam (Romero *et al.*, 2005; Nguyen *et al.*, 2007; Fernane *et al.*, 2010; Rodríguez *et al.*, 2011; Jogee *et al.*, 2012; Costa *et al.*, 2012, Skrbic *et al.*, 2014; Kazemi *et al.*, 2014; Baranyi *et al.*, 2015, Tournas *et al.*, 2015; García *et al.*, 2018).

En Venezuela, son escasas las investigaciones sobre la incidencia fúngica en frutos secos, solo se ha reportado en maní de cosecha y almacenado (Mazzani, 1983; Mazzani, 2012; Iriarte, 2015), y en pistacho (Chavarri *et al.*, 2014). No existe información publicada sobre la colonización fúngica en almendras. Sobre la base de lo antes expuesto, la investigación de mohos toxigénicos en frutos secos es de interés no solo por las implicaciones económicas que tiene sino también por los efectos negativos en la salud humana y animal. Por tal motivo, se detectó y cuantificó los mohos posiblemente toxigénicos asociados a frutos secos de pistachero (*Pistacia vera* L.) y almendro [*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb] comercializados en el estado Aragua, Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de las muestras. Se analizó un total de 16 muestras de 1 kg de semillas de almendra y pistacho, a razón de 8 muestras de 1 Kg para cada una, procedentes de dos centros de expendio a granel ubicados en la ciudad de Maracay, estado Aragua, Venezuela. La recolección de muestras se llevó a cabo cada 15 días, durante 2 meses.

Detección y cuantificación de mohos. La detección y cuantificación de la incidencia de la microbiota en las semillas, se realizó por el método de siembra directa de cien semillas en un medio agarificado de malta sal agar a un pH 5,8 (Singh *et al.*, 1991), previa desinfección con hipoclorito de sodio (NaClO 1%) durante 30 seg. Después de 8 días de incubación a temperatura ambiente de laboratorio (28 ± 2 °C) se procedió, con la utilización de la lupa estereoscópica, para contabilizar el número total de semillas colonizadas. Fueron considerados como colonizados aquellas semillas que presentaron colonias esporulantes del moho (Singh *et al.*, 1991; Houssou *et al.*, 2009). Los mohos aislados con mayor frecuencia se conservaron en el medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA). Para evaluar el grado de incidencia de mohos totales y por especie en particular, se empleó la escala utilizada por Mazzani (1998) para maíz, según sea la incidencia: baja (0-15%), intermedia (16-30%) y alta (>30%)

Identificación de los mohos. Los mohos toxigénicos fueron sembrados asepticamente en placas con el medio de cultivo Czapek Agar a pH 5,8, para

su identificación. La siembra se realizó por triplicado y fueron incubados a temperatura ambiente (28 ± 2 °C) durante 8 días, con alternancia de luz (12 h) y oscuridad (12 h) para favorecer la esporulación. Se realizaron observaciones tanto macroscópicas como microscópicas a partir de las colonias desarrolladas. A nivel macroscópico, con la ayuda de la lupa estereoscópica se determinó el diámetro de la colonia, color en la cara superior e inferior de la colonia, micelio inmerso o aéreo, presencia de exudados, entre otras características. Posteriormente se realizaron preparados microscópicos, mediante la técnica de impresión en cello-tape y preparados entre porta y cubre objetos, con el fin de medir las estructuras con valor taxonómico y comparar los resultados obtenidos con las claves micológicas, artículos científicos y otros textos especializados (Singh *et al.*, 1991; Samson *et al.*, 1995).

Diseño y análisis estadístico. Se utilizó un diseño totalmente aleatorizado con cuatro tratamientos (semillas de pistacho y almendras a granel, procedentes de dos establecimientos diferentes, identificados como 1 y 2 para cada caso) y cuatro muestreos con 15 días de diferencia entre ellos (Cuadro 1). Los datos obtenidos no cumplieron los supuesto básicos del análisis de varianza, por lo que se procedió a realizar un análisis de varianza vía no paramétrica (Kruskal-Wallis) con su respectiva prueba de medias. El análisis de los datos se realizó con programa estadístico Statistix 8.0

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de las especies fúngicas. En esta investigación se detectaron e identificaron ocho especies fúngicas (Figura 1), referidas a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Eurotium*. Las especies identificadas detectadas fueron *Aspergillus niger* Van Tieghem, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium citrinum* Thom, *Aspergillus flavus* Link, *Aspergillus ochraceus* Wilhelm, *Eurotium* sp. y *Penicillium expansum* Link., especies relevantes por su capacidad de producir micotoxinas que afectan la salud pública y animal. Estos resultados coinciden con diversas investigaciones realizadas en frutos secos, donde los mohos aislados corresponden a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, entre otros (Freitas *et al.*, 2011; Jogee *et al.*, 2012; Kazemi *et al.*, 2014; Tournas *et al.*, 2015).

Cuadro 1. Identificación de los tratamientos de acuerdo a las muestras de semillas de almendras y pistachos comercializados en Maracay, estado Aragua, Venezuela.

| Tratamiento | Identificación | Procedencia |
|-------------|----------------------------------|--|
| 1 | M1 R1 M1 R2 M1 R3 M1 R4 | Almendra (granel 1) establecimiento 1 |
| 2 | M2 R1 M2 R2 M2 R3 M2 R4 | Almendra (granel 2) establecimiento 2 |
| 3 | M1 R1 M1 R2 M1 R3 M1 R4 | Pistacho (granel 1) establecimiento 1 |
| 4 | M2 R1 M2 R2 M2 R3 M2 R4 | Pistacho (granel 2) establecimiento 2 |

M= muestra, R= repetición

Incidencia total de mohos y por especie toxigénica. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($\alpha: 0,05$) en la incidencia fúngica total y por especies para *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.*, pero si hubo diferencias estadísticamente significativas en *Penicillium expansum*, *Penicillium citrinum* y *Eurotium sp.* (Cuadro 2). En la comparación de medias para éstas últimas especies, se evidenció mayor contaminación de *Eurotium sp.*, en las muestras de almendras. *P. expansum* solo se detectó en las muestras de pistachos provenientes del establecimiento 1 (T1), pero con baja incidencia (Cuadro 3). Las muestras de almendras presentaron mayor crecimiento fúngico total que en pistachos; sin embargo, las muestras de ambos frutos provenientes del establecimiento 2 presentaron mayor incidencia respecto a las provenientes del establecimiento 1, lo que sugiere el carácter determinante de las condiciones de almacenamiento como humedad, temperatura y ventilación, que predisponen a los frutos a posterior contaminación (Martínez *et al.*, 2013).

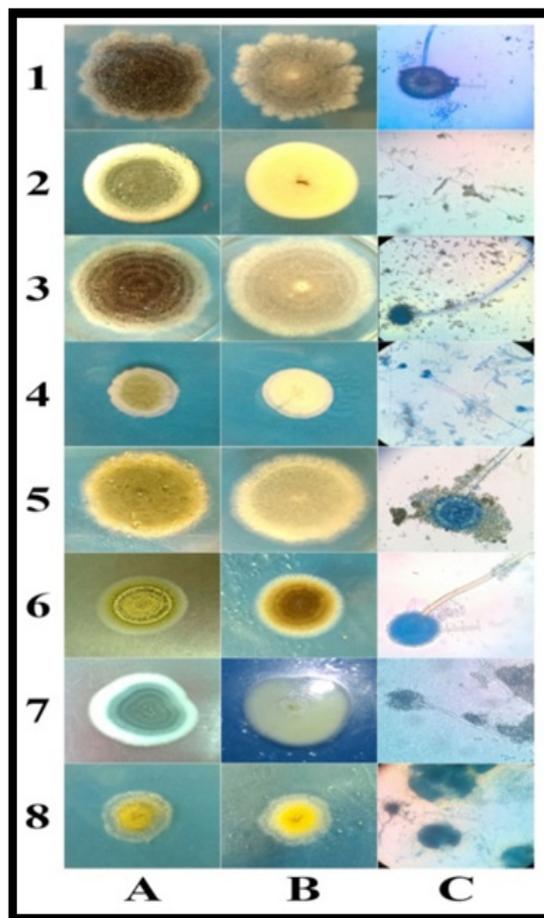


Figura 1. Mohos aislados e identificados en semillas de almendras y pistachos: *Aspergillus niger* (1), *Penicillium sp.* (2), *Aspergillus sp.* (3), *Penicillium citrinum* (4), *Aspergillus flavus* (5), *Aspergillus ochraceus* (6), *Penicillium expansum* (7), *Eurotium sp.* (8). Colonia aislada en el medio de cultivo Czapek Agar: Cara superior (A), Cara inferior (B), Vista al microscopio óptico en 200X y 400X (C).

De las especies aisladas en almendras, *A. niger* presentó incidencia promedio intermedia (20,5 y 24,5%, para T1 y T2, respectivamente) *Eurotium sp.*, tiene baja incidencia en T1 (7,5%), pero alta en T2 (16,25%) (Cuadro 3). Resultados similares fueron obtenidos por Tournas *et al.* (2015), al evaluar muestras de almendras encontrando baja incidencia de *A. flavus*, y los citados por Jogee *et al.* (2012), quienes aislaron seis especies de *Aspergillus*, entre las cuales se encuentran *A. niger*, *A. flavus* y *A. ochraceus*. Sin embargo, los resultados de la presente investigación difieren de los realizados por Romero *et al.* (2005), quienes detectaron los géneros *Aspergillus* (50,2%), *Eurotium* (21,4%) y *Penicillium* (13,5%).

Cuadro 2. Valor de probabilidad (p) de mohos totales y por especies toxigénica en las muestras de almendras y pistacho comercializados en Maracay, estado Aragua, Venezuela.

| Especies de mohos | Valor p |
|--------------------------------------|---------|
| <i>Aspergillus flavus</i> Link | 0,986 |
| <i>Aspergillus sp.</i> | 0,918 |
| <i>Penicillium sp.</i> | 0,587 |
| <i>Aspergillus niger</i> Van Tieghem | 0,529 |
| <i>Aspergillus ochraceus</i> Wilhelm | 0,294 |
| <i>Penicillium citrinum</i> Thom | 0,029* |
| <i>Eurotium sp.</i> | 0,015* |
| <i>Penicillium expansum</i> Link | 0,002* |
| Mohos totales | 0,334 |

Los valores de $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos (*)

En pistachos la incidencia de mohos fue baja para todas las especies aisladas; *A. niger* presentó la mayor incidencia (8,25%) para T4, mientras que *A. flavus* fue muy baja y varió entre 0,5 y 1%, para T3 y T4, respectivamente. En *P. expansum* 1% en T3 y *P. citrinum* 0,25 y 1% en T3 y T4, respectivamente. La presencia de *Aspergillus* y *Penicillium* coincide con un estudio realizado por Fernane *et al.* (2010), donde demostraron la presencia de *A. flavus* en el 30% de las muestras, mientras que *Aspergillus* sección *Nigri*, *A. ochraceus* y *P. verrucosum*, se encontraron en 40%, 2% y 26% de las muestras, respectivamente. Por su parte, Kazemi *et al.* (2014), evaluaron la micoflora contaminante en frutos secos tostados con sal y no

tostados obteniendo como resultado incidencia de *A. niger* de un 62% en pistachos puros y de 8% en pistachos tratados con sal; *A. ochraceus* (1%) y *A. flavus* (6%) se encontraron solo en muestras puras; entretanto, *Penicillium spp.* colonizó el 22% de las muestras puras y solo el 2% en las tostadas con sal.

La presencia de especies del género *Aspergillus* en este estudio es de interés, debido a que en éste se ubican la mayoría de los mohos con capacidad de sintetizar micotoxinas. Las especies de *Aspergillus* se consideran cosmopolitas, aunque son más frecuentes en las regiones tropicales y subtropicales, particularmente en latitudes entre 26-35 °C (García *et al.*, 2018). Jouany (2007) señala que las especies de este género son las menos exigentes en cuanto al nivel de humedad ya que pueden crecer en bajos niveles en un rango de 13,5% y 18%. *A. flavus* muestra una elevada heterogeneidad y puede dividirse en función de la compatibilidad vegetativa, tipo de esclerocios y capacidad para producir toxinas, entre otros aspectos. Así, una población determinada de *A. flavus* puede estar formada por aislados productores de una o varias toxinas (ejemplo aflatoxinas y ácido ciclopiazónico) y aislados sin la capacidad de producir toxinas, denominados atóxicos (Camiletti *et al.*, 2017). Además, aislados de *A. niger* también pueden colonizar almendras o pistachos causando una podredumbre negra de aspecto pulverulento y pueden contaminar los frutos con ocratoxinas. Además, Pacheco (1981) menciona que los mohos son los microorganismos más importantes que colonizan los granos y semillas en el almacenamiento, siendo *Aspergillus* y *Penicillium* los géneros más frecuentes,

Cuadro 3. Incidencia de mohos totales y por especie toxigénica en las muestras de almendras y pistacho comercializados en Maracay, estado Aragua, Venezuela.

| INCIDENCIA DE MOHOS TOXIGÉNICOS ⁽¹⁾ | | | | | | | | | |
|--|-----|------|------|------|---------------------|----|------|-------|-------------------|
| T | AF | AN | ASP | AO | EU | PE | PSP | PC | MT ⁽¹⁾ |
| 1 | 0,5 | 20,5 | 2,5 | 0 | 7,5b ⁽²⁾ | 0a | 0 | 0a | 33,75 |
| 2 | 0,5 | 24,5 | 1,75 | 0,5 | 16,25a | 0a | 0 | 0a | 45,25 |
| 3 | 0,5 | 0,75 | 1,5 | 0 | 0b | 1a | 0,5 | 0,25a | 7,5 |
| 4 | 1 | 8,25 | 1,25 | 0,75 | 0b | 0a | 0,25 | 1a | 13,5 |

⁽¹⁾Porcentaje de semillas colonizadas. T=Tratamiento. T1=Almendras establecimiento 1, T2=Almendras establecimiento 2, T3=Pistacho establecimiento 1 y T4= Pistacho establecimiento 2. AF= *Aspergillus flavus*. AN= *Aspergillus niger*. ASP= *Aspergillus sp.* AO= *Aspergillus ochraceus*. EU= *Eurotium sp.* PE= *Penicillium expansum*. PSP= *Penicillium sp.* PC= *Penicillium citrinum*. ⁽²⁾Comparación de medias. MT= Mohos totales.

Letras distintas indican diferencias estadísticas $\alpha: 0,05$.

coincidiendo con los resultados de la presente investigación (Nazari *et al.*, 2013). Con respecto a *P. expansum*, no se encontró en la literatura estudios que reportaran la contaminación con esta especie en frutos secos.

En Venezuela, se han detectado especies toxigénicas de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* en granos de maní de cosecha y almacenada (Mazzani, 1983; Mazzani 2012; Iriarte, 2015) y *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* en semillas de pistacho (Chavarri *et al.*, 2014). Estos resultados, al ser comparados con los obtenidos en el presente estudio, demuestran alta prevalencia de mohos toxigénicos en alimentos comúnmente consumidos en la población, lo que indica un potencial riesgo de intoxicación crónica tanto en la salud humana como animal, constituyendo un problema de salud pública; ya que en Venezuela las semillas de almendras y pistachos son consumidos por sus propiedades y efectos positivos que ejercen en la salud; es por ello que se debe controlar y garantizar la inocuidad de estos alimentos.

CONCLUSIONES

Se detectó alta incidencia fúngica total en las muestras de almendras y baja en muestras de pistacho. Fueron identificadas siete especies fúngicas toxigénicas pertenecientes a los género *Aspergillus*, *Penicillium* y *Eurotium*. La incidencia fúngica toxigénica de *Aspergillus flavus* en las muestras de almendra y pistacho advierte la posible contaminación de aflatoxinas, siendo estas una de las causantes de cáncer de hígado. Se reporta por primera vez el aislamiento de *Penicillium expansum* en frutos secos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela por los aportes financieros que hicieron posible la investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarca, M.; M. Bragulat; G. Castellá, F. Accensy; J. Cabañes. 2000. Hongos productores de micotoxinas emergentes. Revista Iberoamericana de Micología 17: S63-S68.
- Abrunhosa, L.; H. Morales; C. Soares; T. Calado; AS. Vila-Chã; M. Pereira; A. Venancio. 2012. Micotoxinas detectadas en productos alimenticios en Portugal: revisión. Revista Biociencias 2: 5-31.
- Alexiada, k.; N. Katsilambros. 2011. Nuts: Anti-atherogenic food?. European Journal of Internal Medicine 22(2):141-146.
- Baranyi, N.; D. Despot; A. Palágyi; N. Kiss; S. Kocsubé; A. Szekeres; A. Kecskeméti; C. Vágvolgyi; M. Segvic; J. Vargas. 2015. Identification of *Aspergillus* species in central Europe able to produce G-type aflatoxins. Acta Biologica Hungarica 66: 339-347.
- Camiletti, B. X.; J. Moral, A. K. Torrico; C.M. Asensio; M. D. L. P. Giménez Pecci; E.I. Lucini; T. J. Michailides. 2017. Characterization of an *Aspergillus flavus* population from Argentina and its potential use as biocontrol agents for mycotoxins in maize. Phytopathology 107: 26-26.
- Chavarri, M. 2010. Contribución al conocimiento de los mohos toxigénicos y micotoxinas en maíz en Venezuela. Trabajo de Ascenso a la Categoría de Profesor Agregado, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. 22 p.
- Chavarri, M. 2014. Incidencia de mohos y aflatoxinas en algunas especies de *Fabaceae*, *Poaceae* y sus derivados. Trabajo de Ascenso a la categoría de Asociado. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. 40 p.
- Chavarri, M.; J. Barroyeta; Y. Ochoa; N. Rumbos, N.; J Alezones, J. 2017. Detección de *Fusarium verticillioides* y fumonisinas en granos de maíz blanco provenientes de los estados Yaracuy y Guárico, Venezuela. Nova Scientia 9: 171 - 184.
- Chavarri, M.; M.J. Garrido; N. Rumbos. 2014. Incidencias de mohos toxigénicos en semillas de pistacho (*Pistacia vera* L.) comercializada en Maracay Estado Aragua. En memorias de las Jornadas Técnicas del Instituto de Química y tecnología "Agroindustria, actualidad y perspectivas". Facultad de Agronomía, UCV.

- Chavarri, M.; J. González; C. Mazzani, O. Luzón; R. Figueroa. 2013. Efecto de la humedad relativa y del contenido de humedad de los granos de maíz sobre la síntesis *in vitro* de aflatoxinas. *Fitopatol. Ven.* 26: 7-10.
- Costa, A.; P. Zorzete; T. Alves; E. Assunção; S. Vergueiro; B. Correa. 2012. Mycoflora and mycotoxins in field of Brazil nuts. *Food Control* 28: 224-225.
- Fernane, F.; G. Cano; V. Sanchis; S. Marin; A. Ramos. 2010. Aflatoxins and ochratoxin A in pistachios sampled in Spain: occurrence and presence of mycotoxigenic fungi. *Food Additives Contaminants: Part B: Surveillance* 3: 185-192.
- Freitas, O.; A. Teixeira; F. Quintério; R. Oliveira; A. Venancio. 2011. Predominant mycobiota and aflatoxin content in Brazil nuts. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* 6: 465-472.
- García, M.T.; R. Jaime; B. Camiletti; A. Ortega; T. J. Michailides; J. Moral. 2018. Contaminación de aflatoxinas en frutos secos: un problema emergente. *PHYTOMA* 302:38-42.
- Hernández, S.; F. Zacconi. 2009. Aceite de almendras dulces: extracción caracterización y aplicación. *Revista Química Nova* 32: 1342-1345.
- Houssou, P.A.; B.C. Ahohuendo, P. Fandohan; D.J. Kpodp; M. Jakobsen. 2009. Natural infection of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) by toxigenic fungi and mycotoxin contamination in Benin, West Africa. *Journal of Stored Products Research* 45:40-44
- Iriarte, J. 2015. Microbiota toxigénica asociada a maní (*Arachis hypogaeae* L.) distribuida en Maracay, Edo. Aragua. Trabajo de Grado Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay, estado Aragua. Venezuela. 14 p.
- Jogee, S.; A. Ingle; I. Grupta; S. Bonde; M. Rai. 2012. Detection and management of mycotoxigenic fungi in nuts and dry fruits. In, Razzaghi, M., Hokmabadi, H. y Abbaspour, H. (Eds.) *ISHS Acta Horticulturae* 963: (1), I International Symposium on Mycotoxins in Nuts and Dried Fruits. (pp. 69-78). Damghan, Iran.
- Jouany, J.P. 2007. Methods for preventing, decontaminating and minimizing that toxicity of mycotoxins in feeds. *Animal Feed Science and Technology* 137:342-362.
- Kazemi, A.; A. Ostadrahimi; F. Ashrafnejad; N. Sargheini; R. Mahdavi; M. Farshchian; S. Mahluji. 2014. Mold contamination of untreated and roasted with salt nuts (Walnuts, Peanuts and Pistachios) sold at markets of Tabriz, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology* 7: 8751.
- Krijgsheld, P.; R. Bleichrodt; G. Van Veluw; F. Wang; W. Muller; J. Dijksterhuis and H. Wosten. 2013. Development in *Aspergillus*. *Studies in Mycology* 74: 29.
- Martínez M.; L. Vargas; V. Gómez. 2013. Aflatoxinas: Incidencia, impactos en la salud, control y prevención. *Biosalud* 12: 89-109.
- Nazari, Z.; A. Nakisa; N. Rahbar. 2013. The Occurrence of Aflatoxins in Peanuts in Supermarkets in Ahvaz, Iran. *Journal of Food Research* 2: 94-100.
- Mazzani, B. 1983. Cultivo y mejoramiento de plantas oleaginosas. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Caracas. Venezuela. 613 p.
- Mazzani, C. 1998. Incidencia de *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, aflatoxinas y fumonisinas en ensayos de híbridos de Maíz (*Zea mays* L.) en Venezuela. Tesis Doctoral. Doctorado en Ciencias Agrícolas. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, estado Aragua. Venezuela. 121 p.
- Mazzani, E. 2012. Análisis nutricional y micotoxicológico de granos de maní (*Arachis hypogaeae*). Doctorado en Ciencias Agrícolas. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, estado Aragua. Venezuela. 168 p.
- Nguyen, M.; M. Tozlovanu; T. Tan; A. Leszkowienz. 2007. Ocurrance of aflatoxin B1, citrinin and ochratoxin A in rice in five provinces of the central of Vietnam. *Food Chemistry* 105: 42-47.
- Nus, M.; Ruperto; M.; Sánchez, F. 2004. Frutos secos y riesgo cardiovascular. Una perspectiva española. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 54: 137-148.

- Pacheco, C. 1981. Importancia de la patología de semillas para los programas de semillas. *Fitopatología Colombiana* 13:20-31.
- Rodríguez, P.; A. Venancio; N. Lima. 2011. Aflatoxigenic fungi and aflatoxins in portuguese almonds. *The Scientific World Journal*. 2012: 1-9.
- Romero, S.; R. Comerio; G. Larumbe; A. Retieni; G. Vaamonde; V. Fernández. 2005. Toxigenic fungi isolated from dried vine fruits in Argentina. *International Journal of Food Microbiology*. 104: 43-49.
- Salas, J.; E. Ros; J. Sabaté. 2005. Frutos secos, salud y culturas mediterráneas. *Nutr. Hosp.* 20: 436.
- Samson, R.; E. Hoekstra; J. Frisvad; O. Filtenborg. 1995. *Introduction a food-borne fungi*. 4ta ed. Centralabureau voor Schimmelcultures. Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences. Wageningen, Netherlands 322 p.
- Scussel, V. 1998. *Micotoxinas em Alimentos*. Brasil. Editora Insular. 144 p.
- Singh, K.; J. Frisvad; U. Thrane; S. Mathur. 1991. *An illustrated manual on identification of seed-borne *Aspergilli*, *Fusarium*, *Penicillia* and their mycotoxins*. Institute of Seed Pathology for Developing Countries. Odense, Denmark. 133 p.
- Skrbic, B.; J. Zivancev; M. Godula. 2014. Multimycotoxin analysis of crude extracts of nuts with ultra-high performace liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis* 34: 171-177.
- Tournas, V.; N. Niazi; J. kohn. 2015. Fungal presence in selected tree nuts and dried fruits. *Microbiology Insights* 8: 1-6.