

Mycotoxin-producing fungi in groundnuts.

Potential for mycotoxin contamination (1)

V. K. MEHAN (2) and D. McDONALD (2)

Summary. — Research on aflatoxin contamination of groundnuts following invasion by toxigenic strains of *Aspergillus flavus* has provided guidelines for elimination or reduction of the problem. Unfortunately, groundnut growers in the semi-arid tropics (SAT) have not adopted the recommended practices. The possible use of genetic resistance to seed invasion by *A. flavus* and to aflatoxin production is considered and some research data presented. Many species of fungi have been found associated with groundnut seeds and several are known to be capable of producing mycotoxins on suitable substrates. Reports of natural occurrence of mycotoxins in groundnuts are reviewed, and the natural occurrence of citrinin and zearalenone reported. Preliminary data on mycotoxin production by fungi isolated from groundnuts are presented.

INTRODUCTION

The fruit or pod of the groundnut (*Arachis hypogaea* L.) develops below ground and consequently is in close contact with soil micro-organisms for an extended period. Many species of soil fungi have been isolated from shells and seeds of both rotted and healthy pods [Jackson, 1965; Joffe, 1969; McDonald, 1969a]. One such fungus commonly found in groundnuts is *Aspergillus flavus* Link ex Fries; of great importance and the subject of much research because of its capacity to produce highly toxic and carcinogenic toxins called aflatoxins. The importance of aflatoxins has concentrated attention on *A. flavus* and very little attention has been paid to the other fungi invading groundnuts although their incidence and relative proportions have been recorded in several countries [Jackson, 1965; Joffe, 1969; McDonald, 1969a]. The mycotoxins ochratoxin A and citrinin have also been found to occur naturally in groundnuts [Scott *et al.*, 1972; Rao *et al.*, 1979]. It is likely that the list of mycotoxins occurring naturally in groundnuts will be added to as several fungi commonly found in groundnut seed are known to produce mycotoxins on other substrates.

In this paper we shall discuss mycotoxin contamination of groundnuts and present data on the occurrence of zearalenone in groundnut seeds.

AFLATOXIN CONTAMINATION OF GROUNDNUT

Invasion of groundnut seed by toxigenic strains of *A. flavus* and consequent aflatoxin contamination is a serious problem in most countries where the crop is grown [Anon., 1977]. Research has shown that groundnuts may be invaded by *A. flavus* and aflatoxin produced while developing in the ground, during post-harvest drying, and in storage. Such seeds normally show some kind of mould damage or discolouration. However, apparently undamaged groundnuts have on occasion been found invaded by *A. flavus* and contaminated with aflatoxin in the field before harvest [Sanders *et al.*, 1981; Mehan and McDonald, unpublished data]. Over-maturity and drought stress increase susceptibility of groundnuts to *A. flavus* invasion and aflatoxin formation. Occurrence of drought in the later period of the growing season is common in the SAT increasing the potential for aflatoxin contamination in this environment. Groundnuts invaded by toxigenic strains of *A. flavus* in the field can be the source of serious aflatoxin contamination during crop drying and in storage. This situation is more likely to occur in tropical developing countries than in temperate countries where crop drying and storage facilities are generally more effective. Slow and irregular drying of groundnuts has been shown to favour fungal invasion and aflatoxin contamination [McDonald, 1969b]. In years of continuous rain during harvest of the rainy season crops, a high percentage of seeds are invaded by *A. flavus* and high levels of aflatoxin are found [Mehan and McDonald, unpublished data]. In areas where rains continue after harvest, field drying of groundnuts can present difficulties and a serious aflatoxin contamination problem can arise. In years when rains cease before harvest

(1) ICRISAT Journal Article No. JA-315. This paper is an expanded version of a presentation (ICRISAT Conference Paper CP No. 102) given at the International Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, 1-3 September 1982, Vienna (Austria).

(2) Groundnut Improvement Program, ICRISAT, Patancheru P.O., Andhra Pradesh 502 324 (India).

and post-harvest conditions favour rapid drying, there is very little invasion of seeds by *A. flavus* during this period and consequently no significant increase in aflatoxin content. Factors influencing seed invasion and toxin production have been investigated and crop handling and storage methods evolved that could greatly reduce aflatoxin contamination [Dickens, 1977]. This approach has had little success in tropical countries [Anon., 1977]. Aflatoxin contamination of produce can be reduced by removal of toxic seeds, by segregation of toxic consignments, and by detoxification [Dickens, 1977]. These procedures may be effective in some advanced countries but have limitations for use in developing countries.

A research strategy currently being followed at ICRISAT Center and in several other institutions in various parts of the world is to search for sources of genetic resistance in groundnuts to seed invasion by *A. flavus* and to aflatoxin production. Recent research in the USA [Mixon and Rogers, 1973] in West Africa [Zambettakis *et al.*, 1981], and at ICRISAT [Mehan *et al.*, 1981; Mehan and McDonald, 1981] has demonstrated significant varietal resistance to invasion of rehydrated mature, stored seeds by the toxigenic fungus. Some breeding lines have been shown to have resistance to seed invasion by *A. flavus* [Mixon and Rogers, 1973]. These genotypes require improvement in agronomic characters before being supplied to farmers, however, the genotype J11 identified as resistant at ICRISAT [Mehan *et al.*, 1981] is a commercial cultivar in India. This type of resistance is likely to be of value in the event of stored groundnuts absorbing sufficient moisture to permit fungal growth, and might perhaps be useful in seasons when field drying conditions are unfavourable because of late rains. Genotypes are also being screened for resistance to aflatoxin production. No completely resistant genotype has been found but significant differences in rate and amount of aflatoxin produced in seeds inoculated with toxigenic strains of *A. flavus* have been reported [Mehan and McDonald, 1981]. We have tested only a small proportion of the world groundnut germplasm collection and it is hoped that we may yet find genotypes with even higher levels of resistance to aflatoxin production and perhaps genotypes which may combine good resistance to aflatoxin production with good resistance to seed invasion by the fungus.

OCHRATOXIN AND CITRININ CONTAMINATION OF GROUNDNUT

Scott *et al.* [1972] reported a concentration of 4,900 ppb of ochratoxin A in a sample of mouldy groundnuts imported in to Canada from Mexico. The groundnuts had been stored for 6 months under, cool, humid conditions prior to analysis. A toxigenic strain of *Penicillium viridicatum* West was isolated from these groundnuts. Rao *et al.* [1979] found ochratoxin A in a sample of groundnuts collected from retail shops in Mysore, India. One sample contained 50 ppb and the other 2,000 ppb of the toxin. In the U.S.A., Wilson *et al.* [1977] reported low levels of ochratoxin A in 3 samples of seeds of genotypes PI 337394F and PI 337409. The seeds were from damaged pods that had been held at $25 \pm 2^\circ\text{C}$ under 87 ± 2 p. 100 RH for 10 days before analysis. Ochratoxin is produced by several species of *Aspergillus* and *Penicillium*, and most frequently by *A. ochraceus* Wilhelm and *P. viridicatum*. These fungi

occur in groundnut seeds but at much lower incidence than does *A. flavus*.

Subrahmanyam and Rao [1974] found citrinin in several samples of seed from damaged pods from rainy season groundnuts in India; concentrations ranged from 70-1,200 ppb. In recent investigations the authors have found citrinin in seeds from 2 samples of pods with slight damage from the 1980 rainy season crop at ICRISAT Center. Seeds of two cultivars, Robut 33-1 and M13, were contaminated with citrinin. Concentration were from 1,440-1,553 ppb. Citrinin was extracted and quantitated by the method of Gimeno [1980]. The seeds were infected with *Penicillium citrinum* Thom., *A. flavus* and *A. terreus* Thom. Several species of *Penicillium* and *Aspergillus* are known to produce citrinin. The most important source in groundnuts is likely to be *P. citrinum* as this fungus is often present in groundnut seeds at higher incidence than *A. flavus* [McDonald, 1969c].

It is likely that measures taken to reduce aflatoxin contamination of groundnuts may also reduce contamination with ochratoxin A and citrinin. Further research is needed to determine the factors influencing seed invasion by fungi producing these toxins.

ZEARALENONE CONTAMINATION OF GROUNDNUT

Fusarium spp. are important components of the seed mycoflora of healthy pods [Jackson, 1965; Joffe, 1969; McDonald, 1969], and are also implicated in pod rots [Mercer, 1977; Mehan *et al.*, 1981]. *Fusarium* species such as *F. solani* (Mart.) Sacc., *F. tricinutum* (Cda.) Sny. and Hans., *F. moniliforme* Sheldon are well known as producers of such mycotoxins as zearalenone, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol and neosolaniol [Ueno, 1977]. *Fusarium* toxins have been found mainly in cereal grains and their products, but we have recently started to test groundnuts for the natural occurrence of these toxins. Groundnut pods with slight to moderate symptoms of *Fusarium* pod rot attack were taken from the ICRISAT 1981 rainy season crop and the seeds tested for the presence of zearalenone. The method of Mirocha *et al.* [1967] was used for extraction and analysis. Several chemical tests were also employed for the confirmation of zearalenone spots on TLC plates [Mirocha *et al.*, 1974; Eppley *et al.*, 1974]. Of 12 samples of seed tested one was found to contain the toxin at a concentration of 1,500 ppb. Fungi isolated from the seeds included *F. solani*, *F. oxysporum* Schlecht and *F. moniliforme*. Testing of groundnuts for zearalenone and other *Fusarium* toxins is continuing.

In another experiment 13 strains of 5 *Fusarium* spp. (5 of *F. solani*; 5 of *F. oxysporum*; and one each of *F. nivale*, *F. fusarioides*, and *F. moniliforme*) obtained from groundnuts were tested for their ability to produce zearalenone. These strains were grown on moist autoclaved rice culture medium for two weeks at 25°C followed by 8 weeks at 15°C . One strain of *F. oxysporum* (F6) produced 148,000 ppb of zearalenone but none of the other strains produced detectable amounts. Lansden *et al.* [1978], in U.S.A., reported a toxigenic *F. tricinutum* (NRRLA-23377) from Florunner groundnuts left in the soil after the 1976 harvest. The mould produced, in liquid culture, a toxic metabolite belonging to the trichotecene family of mycotoxins. The toxin was shown to be 3x-hydroxy-4B, 8x,15-triacetoxy-12,13-epoxytrichothec-9-ene

and assigned the trivial name neosolanol monoacetate. The toxin possessed dermal toxicity similar to T-2 toxin in rabbit skin tests.

Pod rots of groundnut are serious diseases in some regions of the SAT, the pathogens implicated being *Fusarium* spp., especially *F. solani* and *F. oxysporum* [Mercer, 1977; Mehan *et al.*, 1981]. Pod rots have direct effects upon crop yield and can also lead to quality

problems when damage to individual pods is slight leading to concealed damage and possible contamination with toxic metabolites of *Fusarium* spp. Pod rots facilitate the invasion of seeds by other fungi such as *A. flavus*. Several toxigenic fungi other than *A. flavus* are known to occur in groundnuts and research is needed to determine their abilities to produce the toxins in groundnut seeds. Research along these lines is underway at the ICRI SAT Center.

REFERENCES

- [1] ANONYMOUS (1977). — Report of the joint FAO WHO UNEP Conference on mycotoxins. Nairobi, 19-27 September, 1977.
- [2] EPPELY R. M., STOFFEL F., TRUCKENSSM and CHUNG M. W. (1974). — *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 57, p. 632.
- [3] GIMINO A. (1980). — Improved method for thin layer chromatographic analysis of mycotoxins. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 63, 182-186.
- [4] JACKSON C. R. (1965). — A list of fungi reported in peanut pods and kernels. Univ. Georgia College Agric. Mimeo. Series NS 234, 6 pp.
- [5] JOFFE A. Z. (1969). — The microflora of fresh and stored groundnut kernels in Israel. *Mycopath. Mycol. Appl.*, 39, p. 255-264.
- [6] LANSDEN J. A., COLI R. J., DORNER J. W., COX R. H., CUTLER H. G. and CLARK J. D. (1978). — A new trichothecene mycotoxin isolated from *Fusarium tricinum*. *J. Agric. Food Chem.*, 26, p. 246-252.
- [7] McDONALD D. (1969a). — The influence of the developing groundnut fruit on soil mycoflora in Nigeria. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 53, p. 393-406.
- [8] McDONALD D. (1969b). — *Aspergillus flavus* on groundnut (*Arachis hypogaea* L.) and its control in Nigeria. *J. Stored Prod. Res.*, 5, p. 275-280.
- [9] McDONALD D. (1969c). — Groundnut pod diseases. *Rev. Appl. Mycol.*, 48, p. 465-474.
- [10] MEHAN V. K. and McDONALD D. (1981). — Aflatoxin production in groundnut cultivars resistant and susceptible to seed invasion by *Aspergillus flavus*. In *Proc. International Symposium on Mycotoxins*, Cairo, Egypt, 6-9 September, 1981.
- [11] MEHAN V. K., McDONALD D., NIGAM S. N. and LALITHA B. (1981). — Groundnut cultivars with seed resistance to seed invasion by *Aspergillus flavus* (bilingue angl.-fr.). *Oléagineux*, 36, n° 10, 501-507.
- [12] MEHAN V. K., McDONALD D. and RAO V. R. (1981). — Pod rot disease of peanut at ICRI SAT, India. *Proc. Am. Peanut Res. Educ. Soc.*, 13, p. 91.
- [13] MERCER P. C. (1977). — A pod rot of peanut in Malawi. *Plant. Dis. Rep.*, 61, p. 51-55.
- [14] MIROCHA C. J., CHRISTENSEN C. M. and NELSON G. H. (1967). — Estrogenic metabolite produced by *Fusarium graminearum* in stored corn. *Appl. Microbiol.*, 15, p. 497-503.
- [15] MIROCHA C. J., SCHAVIRHAMER B. and PATHRE S. V. (1974). — Isolation, detection, and quantitation of zearalenone in maize and barley. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 57, p. 1104-1110.
- [16] MIXON A. C. and ROGERS K. M. (1973). — Peanut accessions resistant to seed infection by *Aspergillus flavus*. *Agron. J.*, 65, p. 560-562.
- [17] RAO I. R., BASAPPA S. C. and SREENIVASA MURTHY V. (1979). — Studies on the occurrence of ochratoxins in food grains. *J. Food Sci. Tech.*, 16, p. 113-114.
- [18] SCOTT P. M., VAN WAI BELK W., KENNEDY B. and ANYI I. D. (1972). — *J. Agric. Food Chem.*, 20, p. 1103-1109.
- [19] SUBRAHMANYAM P. and RAO K. S. (1974). — Occurrence of aflatoxin and citrinin in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) at harvest in relation to pod condition and moisture content. *Curr. Sci.*, 43, p. 707-710.
- [20] UENO Y. (1977). — Trichothecenes: Overview Address. In *Mycotoxins in Human and Animal Health* (eds. Rodricks, J., Hesselme, C. W. and Mehlman, M. A.) Pathotox Publishers Inc. Illinois, U.S.A.
- [21] WILSON D. M., MIXON A. C. and TROGER J. M. (1977). — Aflatoxin contamination of peanuts resistant to seed invasion by *Aspergillus flavus*. *Phytopathology*, 67, p. 922-924.
- [22] ZAMBETTAKIS C., WALIYAR F., BOCKEJÉL-MORVAN A. et PINS O. de (1981). — Résultats de quatre années de recherches sur la résistance de variétés d'arachide à l'*Aspergillus flavus* (bilingue fr.-angl.). *Oléagineux*, 36, N° 7, p. 377-385.

RÉSUMÉ

Champignons producteurs de mycotoxines chez l'arachide. Potentiel de contamination par les mycotoxines.

V. K. MEHAN et D. McDONALD, *Oléagineux*, 1984, 39, N° 1, p. 25-29.

Les recherches concernant la contamination des arachides à la suite de l'invasion par des souches toxigènes d'*Aspergillus flavus* ont amené des recommandations pour l'élimination ou la réduction de ce problème. Malheureusement, les cultivateurs d'arachides des tropiques semi-arides (TSA) n'ont pas adopté les méthodes recommandées. L'utilisation éventuelle de la résistance génétique à l'invasion des graines par *A. flavus* et à la production d'aflatoxine est étudiée, et quelques données expérimentales sont présentées. Plusieurs espèces de champignons ont été trouvées en association avec les graines d'arachide, et l'on sait que plusieurs sont capables de produire des mycotoxines sur des substrats adaptés. Des rapports sur l'incidence naturelle des mycotoxines chez l'arachide sont examinés, et la production naturelle de citrinine et de zéaralénone est signalée. Des données préliminaires relatives à la production de mycotoxines par des champignons isolés à partir d'arachides sont également présentées.

RESUMEN

Hongos productores de micotoxinas en el maní — Potencial de contaminación por las micotoxinas.

V. K. MEHAN y D. McDONALD, *Oléagineux*, 1984, 39, N° 1, p. 25-29.

Las investigaciones sobre la contaminación de manís, como consecuencia de la invasión por cepas toxicógenas de *Aspergillus flavus*, llevaron a enunciar recomendaciones para poder solucionar este problema, o reducir su impacto. Desgraciadamente, los cultivadores de maní del trópico semiárido (TSA) no adoptaron los métodos recomendados. Se estudia la posible utilización de la resistencia genética a la invasión de las semillas por *A. flavus* y a la producción de aflatoxina, y se presentan algunos datos experimentales. Se encontró varias especies de hongo asociadas con semillas de maní, y se sabe que varias de las mismas son capaces de producir micotoxinas en substratos apropiados. Se examinan informes sobre la incidencia natural de micotoxinas en el maní, y se indica la producción natural de citrinina y zearalenone. Se presentan asimismo datos preliminares relativos a la producción de micotoxinas por hongos aislados a partir de manís.

Champignons producteurs de mycotoxines chez l'arachide

Potentiel de contamination par les mycotoxines (1)

V. K. MEHAN (2) et D. McDONALD (2)

INTRODUCTION

Le fruit ou la gousse de l'arachide (*Arachis hypogaea* L.) se développe sous terre et se trouve donc en contact intime avec les microorganismes du sol pendant une période prolongée. Plusieurs espèces de champignons du sol ont été isolées à partir de gousses et de graines d'arachide pourries et saines [Jackson, 1965 ; Joffe, 1969 ; McDonald, 1969a]. *Aspergillus flavus* Link ex Fries est un des champignons fréquemment trouvés chez l'arachide, et qui a fait l'objet de recherches approfondies à cause de sa capacité de production d'aflatoxines, substances extrêmement toxiques et carcinogènes. L'importance des aflatoxines a concentré l'attention des chercheurs sur *A. flavus* et ils ont fait peu de cas des autres champignons infestant les arachides, bien que leur incidence et leur importance relative aient été signalées dans plusieurs pays [Jackson, 1965 ; Joffe, 1969 ; McDonald, 1969a]. Il a été démontré que les mycotoxines, ochratoxine A et citrinine se trouvent naturellement chez l'arachide [Scott *et al.*, 1972 ; Rao *et al.*, 1979]. Il est probable que d'autres noms s'ajoutent à la liste des mycotoxines existant chez l'arachide dans des conditions naturelles, puisque plusieurs champignons, que l'on trouve couramment dans les graines d'arachide, produisent des mycotoxines sur d'autres substrats.

Cet article traite de la contamination des arachides par les mycotoxines et présente des données sur l'incidence de la zéaralénone dans les graines d'arachide.

CONTAMINATION DES ARACHIDES PAR L'AFLATOXINE

L'invasion des graines d'arachide par des souches toxigènes de *A. flavus*, et la contamination par l'aflatoxine qui en résulte, représentent un grave problème dans la plupart des pays producteurs d'arachides [Anon., 1977]. Les recherches ont montré que l'infestation par *A. flavus* et la production d'aflatoxine peuvent se produire pendant le développement des arachides sous terre, au cours du séchage après la récolte, ou pendant le stockage. Les graines ainsi atteintes montrent normalement des moisissures ou une décoloration. Cependant, l'invasion par *A. flavus* et la contamination par l'aflatoxine d'arachides apparemment intactes ont également été observées au champ avant la récolte [Sanders *et al.*, 1981 ; Mehan et McDonald, résultats non publiés]. La surmaturité et les effets de la sécheresse augmentent la susceptibilité des arachides à l'invasion par *A. flavus* et à la production d'aflatoxine. La sécheresse vers la fin de la saison de culture est courante dans les TSA, augmentant ainsi le potentiel de contamination par l'aflatoxine. Les arachides envahies par des souches toxigènes de *A. flavus* au champ peuvent être la source de contamination grave pendant le séchage et le stockage de la récolte. Cette situation est plus susceptible de se produire dans les pays tropicaux en voie de développement que dans les pays tempérés où les facilités de séchage et de stockage des arachides sont normalement meilleures. Il a été démontré qu'un séchage lent et irrégulier des arachides favorise l'invasion par les champignons et la contamination par l'aflatoxine [McDonald, 1969b]. Les années où il pleut pendant toute la période de récolte de la culture pluviale, un très grand pourcentage de graines est envahi par *A. flavus* et des taux élevés d'aflatoxine sont décelés [Mehan et McDonald, résultats non publiés]. Dans les régions où les pluies continuent après la récolte, le séchage des arachides au champ peut présenter des dif-

ficultés, et un grave problème de contamination par l'aflatoxine peut en résulter. Les années où les pluies s'arrêtent avant la récolte et où les conditions climatiques après la récolte favorisent un séchage rapide, il y a très peu d'infestation par *A. flavus* pendant cette période et, par conséquent, pas d'augmentation significative des taux d'aflatoxine. Les facteurs influençant l'invasion des graines et la production de toxines ont été examinés, et des méthodes de conditionnement et de stockage des arachides susceptibles de réduire énormément la contamination par l'aflatoxine ont été mises au point [Dickens, 1977]. Cette approche n'a eu que peu de succès dans les pays tropicaux [Anon, 1977]. La contamination des arachides par l'aflatoxine peut être réduite en enlevant les graines contaminées, en écartant les lots toxiques, et par la détoxification [Dickens, 1977]. Ces procédés peuvent être efficaces dans certains pays développés, mais leur utilisation est limitée dans les pays en voie de développement.

L'une des stratégies de recherche actuellement poursuivies au Centre ICRISAT, et dans plusieurs instituts dans d'autres pays, est de chercher des sources de résistance génétique des arachides à l'invasion des graines par *A. flavus* et à la production d'aflatoxine. Des recherches récentes aux Etats-Unis [Mixon et Rogers, 1973], en Afrique de l'Ouest [Zambettakis *et al.*, 1981] et à l'ICRISAT [Mehan *et al.*, 1981 ; Mehan et McDonald, 1981] ont démontré une résistance variétale significative à l'invasion de graines mûres, réhumidifiées et stockées, par le champignon toxigène. Il a été démontré que certaines lignées sont résistantes à l'invasion des graines par *A. flavus* [Mixon et Rogers, 1973]. Il sera nécessaire d'améliorer les caractéristiques agronomiques de ces génotypes avant qu'ils puissent être distribués aux cultivateurs. Cependant, le génotype J11, identifié comme résistant par l'ICRISAT [Mehan *et al.*, 1981], est un cultivar commercial en Inde. Ce type de résistance serait utile au cas où des arachides stockées absorberaient suffisamment d'humidité pour supporter la production de champignons, et serait peut-être utile lorsque des pluies tardives rendent défavorables les conditions de séchage au champ. Des génotypes sont aussi à l'essai pour leur résistance à la production d'aflatoxine. Aucun génotype complètement résistant n'a été révélé, mais on a trouvé des différences significatives dans la vitesse de production d'aflatoxine et la quantité de cette substance produite dans des graines inoculées de souches toxigènes de *A. flavus* [Mehan et McDonald, 1981]. Nous n'avons testé qu'une petite partie de la collection mondiale de matériel végétal arachide, et nous espérons encore trouver des génotypes ayant des niveaux de résistance à la production d'aflatoxine encore plus élevés, et même des génotypes ayant à la fois une bonne résistance à la production d'aflatoxine et à l'invasion par le champignon.

CONTAMINATION DES ARACHIDES PAR L'OCRATOXINE ET LA CITRININE

Scott *et al.* [1972] ont signalé une concentration de 4 900 ppb d'ochratoxine A dans un échantillon d'arachides moisis importées du Mexique au Canada. Les arachides avaient été stockées pendant six mois dans des conditions fraîches et humides avant l'analyse. Une souche toxigène de *Penicillium viridicatum* West a été isolée à partir de ces arachides. Rao *et al.* [1979] ont trouvé de l'ochratoxine A dans un échantillon d'arachides pris chez des détaillants à Mysore (Inde). Un échantillon contenait 50 ppb de la toxine, un autre en contenait 2 000. Aux Etats-Unis, Wilson *et al.* [1977] ont signalé des niveaux peu élevés d'ochratoxine A dans trois échantillons de graines des génotypes PI 337394F et PI 337409. Les graines venaient de gousses endommagées qui avaient été gardées à 25 ± 2 °C, à une HR de 87 ± 2 p. 100 pendant 10 jours avant l'analyse. Plusieurs espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium* produisent de l'ochratoxine, le plus souvent *A. ochraceus* Wilhelm et *P. viridicatum*. Ces champignons se trouvent dans les graines d'arachide, mais à un degré bien moindre que *A. flavus*.

Subrahmanyam et Rao [1974] ont trouvé de la citrinine dans

(1) ICRISAT Journal, Article No. JA-315. Cet article est une version élargie d'une communication (ICRISAT Conference Paper CP No. 102) faite à l'International Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, 1-3 septembre 1982, Vienne (Autriche).

(2) Groundnut Improvement Program. ICRISAT, Patancheru P.O., Mirohca *et al.* [1967] a été utilisée pour l'extraction et l'analyse.

plusieurs échantillons de graines venant de gousses endommagées d'arachides cultivées en saison des pluies en Inde ; les concentrations variaient de 70 à 1 200 ppb. Dans des recherches récentes les auteurs ont trouvé de la citrinine dans des graines provenant de deux échantillons de gousses légèrement endommagées de la culture pluviale 1980 au Centre ICRISAT. Des graines de deux cultivars, Robut 33-1 et M13, étaient contaminées par la citrinine, à des concentrations variant de 1 440 à 1 553 ppb. La citrinine a été extraite et quantifiée selon la méthode de Gimeno [1980]. Les graines étaient infectées par *Penicillium citrinum* Thom., *A. flavus* et *A. terreus* Thom. Nous savons que plusieurs espèces de *Penicillium* et de *Aspergillus* produisent de la citrinine. La source la plus importante chez l'arachide est probablement *P. citrinum*, puisque ce champignon est souvent présent dans les graines d'arachide en plus grande quantité que *A. flavus* [McDonald, 1969c].

Il est probable que les mesures prises pour réduire la contamination par l'aflatoxine réussissent également pour l'ochratoxine A et la citrinine. Des recherches ultérieures seront nécessaires pour déterminer les facteurs influençant l'invasion des graines par des champignons producteurs de ces toxines.

CONTAMINATION DES ARACHIDES PAR LA ZÉARALÉNONE

Les différentes espèces de *Fusarium* sont des composantes importantes de la mycoflore des graines dans les gousses saines [Jackson, 1965 ; Joffe, 1969 ; McDonald, 1969], et sont également impliquées dans les fusarioses des gousses [Mercer, 1977 ; Mehan *et al.*, 1981]. Des espèces de *Fusarium*, telles que *F. solani* (Mart.) Sacc., *F. tricinctum* (Cda.) Sny. et *F. moniliforme* Sheldon, sont connues comme productrices de mycotoxines comme la zéaralénone, la toxine T-2, le diaétoxy-scirpénol et le néosolanol [Ueno, 1977]. Des toxines provenant de *Fusarium* ont été surtout trouvées dans des gaines de céréales et dans leurs produits, mais nous testons depuis peu les arachides pour déceler la présence naturelle de ces substances. Des gousses d'arachide montrant des symptômes peu marqués ou modérés de fusariose des gousses ont été prises dans la récolte de la culture pluviale ICRISAT 1981, et testées pour déceler la présence de zéaralénone. La méthode de Mirocha *et al.* [1967] a été utilisée pour l'extraction et l'analyse.

Plusieurs tests chimiques ont également été employés pour confirmer la présence de taches de zéaralénone sur des plaques de chromatographie en couches minces [Mirocha *et al.*, 1974 ; Eppley *et al.*, 1974]. Des 12 échantillons de graines testés, un contenait cette toxine à une concentration de 1 500 ppb. Parmi les champignons isolés à partir des graines se trouvaient *F. solani*, *F. oxysporum* Schlecht et *F. moniliforme*. Nous continuons à tester les arachides pour déceler la présence de zéaralénone et d'autres toxines provenant des *Fusarium*.

Dans une autre expérience, 13 souches de 5 espèces de *Fusarium* (5 de *F. solani*, 5 de *F. oxysporum* et 1 de chaque : *F. nivale*, *F. fusarioides* et *F. moniliforme*), obtenues à partir d'arachides, ont été testées pour leur capacité à produire la zéaralénone. Ces souches ont été mises en culture en milieu humide autoclavé à base de riz pendant deux semaines à 25 °C, suivies de 8 semaines à 15 °C. Une souche de *F. oxysporum* (F6) a produit 148 000 ppb de zéaralénone, mais aucune des autres souches n'a produit des quantités décelables de cette toxine. Landsden *et al.* [1978], aux États-Unis, ont signalé un *F. tricinctum* toxigène (NRRL A-23377) obtenu à partir d'arachides Florunner laissées dans le sol après la récolte 1976. En culture liquide, la moisissure a produit un métabolite toxique appartenant à la famille trichothécène des mycotoxines. On a démontré que cette toxine était la 3x-hydroxy-4B, 8x, 15-triacétoxy-12, 13-époxytrichothéc-9-ène, et le nom spécifique de néosolanol monoacétate lui a été attribué. Des tests cutanés chez le lapin ont mis en évidence une toxicité dermique semblable à celle de la toxine T-2.

Les fusarioses des gousses de l'arachide sont des maladies graves dans certaines régions des TSA, les pathogènes impliqués étant des espèces de *Fusarium*, notamment *F. solani* et *F. oxysporum* [Mercer, 1977 ; Mehan *et al.*, 1981]. Les fusarioses des gousses ont un effet direct sur la production des arachides, et peuvent aussi entraîner des problèmes de qualité quand les gousses sont peu endommagées, entraînant des dégâts cachés et une contamination éventuelle par des métabolites toxiques des *Fusarium*. Les fusarioses des gousses facilitent l'invasion des graines par d'autres champignons, tels que *A. flavus*. Plusieurs champignons toxigènes autres que *A. flavus* sont connus chez l'arachide, et leur capacité de produire des toxines dans les graines d'arachide devrait être étudiée. Des recherches dans cette optique sont actuellement en cours au Centre ICRISAT.

Congrès, Salons, Expositions

« Les corps gras végétaux et animaux en cosmétologie ». 16-18 mai 1984, Bordeaux (France).

L'incorporation des corps gras d'origine naturelle connaît actuellement un succès certain dans la formulation des produits cosmétiques. Les progrès scientifiques et techniques des vingt dernières années permettent l'obtention de matières premières intéressantes par leurs qualités et leurs applications. Ces progrès facilitent également la mise en œuvre des matières premières tant traditionnelles qu'inhabituelles.

C'est sur ces bases que l'Association Française pour l'Étude des Corps Gras (A.F.E.C.G.) et la Société Française de Cosmétologie (S.F.C.) ont décidé d'organiser ce symposium.

En voici les principaux thèmes :

- Corps gras végétaux inhabituels ;
- Corps gras modifiés ;
- Relation entre la composition des corps gras et leurs propriétés ;
- Composition et activité des insaponifiables ;
- Emulsions (émulsions 100 p. 100 végétales, microémulsions...) ;
- Additifs (antioxygènes, antimousses...) ;
- Contrôle de qualité des corps gras ;

- Tests d'innocuité ;
- Tests d'objectivation.

Pour tous renseignements, s'adresser à : AFEGC, 10/A rue de la Paix, 75002 Paris (France).

17^e Congrès de l'I.S.F. (International Society for Fat Research). 4-9 novembre 1984, New Delhi (Inde).

En vue de son congrès mondial en Inde, avec l'Oil Technologists' Association of India comme hôte, l'I.S.F. a retenu les 14 thèmes suivants :

1. — Biochimie. 2. — Composition et caractéristiques.
3. — Techniques analytiques et équipement.
4. — Stabilité de flaveur. 5. — Nutrition. 6. — Huiles de Sal et de Mangue et autres huiles moins connues.
7. — Graisses pour usages spéciaux. 8. — Revêtements de surface. 9. — Dérivés lipochimiques.
10. — Conservation de l'énergie dans le traitement des huiles et graisses. 11. — Protéines alimentaires.
12. — Métabolisme des lipides. 13. — Rôle pharmacologique des lipides. 14. — Fluides supercritiques.

Pour tous renseignements, s'adresser à : Organising Committee, ISF-OTAI World Congress, c/o Shriram Foods and Fertilizer Industries, Shivaji Marg, New Delhi 110015 (Inde).