

MICROBIOLOGY AND MYCOTOXINS CHAIRMAN'S REPORT

John LACEY

A.F.R.C. Institute of Arabe Crops Research, Rothamsted
Experimental station, Harpenden, Herts AL5 2JQ, U.K.

A total of 20 papers on the mycology and mycotoxicology of stored products were presented as lectures or posters during the storage microflora and mycotoxins sessions, with a further small number of papers in other sessions. The papers covered the range of storage microbiology, from detection of moulds and mycotoxins to quality assessment, from pre-storage colonization to colonization of stored grain, from control of moulding to the health hazards arising from moulding. They presented an overview of the state of the art and more especially emphasised some of the questions to which answers are required. However these answers must be achieved within the context of the ecology of the total storage ecosystem.

Nowhere is the need for new methodology more necessary than in the assessment of the microbial content and quality of stored products. Dr. King emphasised the recent development of new media for the isolation of different groups of fungi from grain. These are undoubtedly valuable for particular purposes but the relationships between colony forming units, percent infection of grains, fungal biomass and effects on grain quality still remain to be determined and may well differ for different fungi. Chemical methods of determining biomass have been tested at different times and are subject to a number of shortcomings. However, within certain limitations, ergosterol analysis (Cahagnier et al; Marfleet et al) can provide a useful assay of biomass although it is to be expected that it will in due course be superseded, as with some mycotoxins (Ramakrishna et al), by immunoassays for either total fungi or particular species. Volatile metabolites (sinha, session1) may also provide a means for detecting fungal invasion and perhaps of assessing fungal activity as well as having a role in the attraction or repulsion of insects or mites. In assessing effects on grain quality, the risk of mycotoxins and health hazards to workers, precise identification of fungi is necessary (.Kozakiewicz). However, this must be based on an agreed taxonomy and must be adapted as far as possible to the needs of workers in the field who may not have sophisticated equipment to determine the finer features of spore morphology.

Colonization of grain starts soon after ear emergence. There have been few estimates of the periods of safe storage under different environmental conditions. However, (Hamer et al) demonstrated the utilisation of a new electrolytic method of measuring respiration of grain that can be use to provide data for modelling safe periods for ambient air drying. Other studies showed how fungal infection and agrochemicals affected chemical composition and the aflatoxin content of some seeds (Frag); how water activity and temperature affected the colonization of barley grain by competing microflora and how fongal interactions can affect mycotoxin production (Ramakrishna et al); how water activity and temperature affect moulding and dry matter loss in rapeseed (Magan et al); and how lipids affect the growth of xerophilic fungi (Lesage et al). High aflatoxin production in cereal grains was associated with a high carbohydrate + lipid: protein ratio. Aflatoxin production in grain could be enhanced or decreased by the presence of certain fungi, depending on environmental conditions, or by different agrochemicals. Some essential oils could prevent mould growth and aflatoxin production but their use would be restricted unless means could be found to ensure their testing according to national pesticide regulations since this was unlikely to be supported by chemical companies. Lipids also enhanced growth of xerotolerant fungi in maize grain. All these studies point to the need for further research on the effects of fungal colonization on grain quality.

In temperate regions fungi have, for convenience, been classified into field and storage species but study of grain in humid tropical regions has shown that species considered characteristic of storage can be found on grain in the field and can even form mycotoxins there. An integrated approach to the control of moulding must allow for this possibility. Mora described how, in Costa Rica, maize grain in one region became contaminated with aflatoxin in the few days between harvest and drying. This appeared to be associated with shelling immediately after harvest, allowing *Aspergillus flavus* to colonise damaged grain. Integrated control of several environmental parameters simultaneously allows the possibility of synergistic interactions and the control of moulding without extreme levels of any one treatment (Lacey et al.; Kennedy et al). Often tolerance of any one unfavourable factor is greatest when levels of all other parameters are optimal. Synergism may also occur between different organic acids used for fungal control but inadequate treatment could lead to the enhancement of aflatoxin formation (Fanelli et al.). Data presented in these papers on modified atmosphere storage was supplemented by studies in Indonesia of the toxicity of CO₂ to different fungi in stored maize grain (Dharmaputra et al). Heat treatments suggested for sorghum grain (More et al) may perhaps also be integrated with other storage treatments to improve their effectiveness. Biocontrol is an attractive proposition in that it could decrease the use of chemicals. Cuero described the possible use of *Bacillus subtilis* for this purpose, combined with chitosan treatment. However, although aflatoxin production was decreased on maize, it was not eliminated.

Health hazards from stored grain come from the airborne dust and from mycotoxins. Although the causes of some respiratory diseases in which grain dust is implicated have been identified, the importance of fungal spores and other components in organic dust toxic syndrome and chronic pulmonary lung disease are not known (Lacey). *Strachybotrys atra* has been found in France to cause allergy in man and toxicosis in animals (Le Bars et al) while aflatoxin has recently been recognised as a problem in Turkish figs (Karapinar & Gonul).

In general, emphasis appears to be moving away from aflatoxins towards a more general concern with the effects of microflora on grain quality. New methods may allow more precise determination of the effects of moulds on grain quality and of safe storage periods with ambient air drying or different combinations of treatments to prevent moulding.

MICROBIOLOGIE ET MYCOTOXINES

RESUME DU PRESIDENT

John LACEY

A.F.R.C. Institute of Arabe Crops Research, Rothamsted
Experimental station, Harpenden, Herts AL5 2JQ, U.K.

Il a été présenté, durant la session 2, un ensemble de 20 communications orales et posters concernant la mycologie et la mycotoxicologie des grains stockés, le sujet a également été abordé dans quelques communications réparties dans les autres sessions. Ces communications ont couvert tous les aspects de la microbiologie du stockage, allant de la détection des moisissures et des mycotoxines en vue d'estimer la qualité des grains stockés, en passant par l'inventaire des espèces colonisant les grains avant et pendant le stockage, le contrôle de la croissance des moisissures et les risques qu'elles représentent pour la santé. Les intervenants ont présenté une vue générale des récents progrès et ils ont plus spécialement insisté sur les questions importantes restant à ce jour sans réponses. Cependant, il faudra parvenir à les résoudre en intégrant les diverses composantes de l'ensemble de l'écosystème que représentent les produits stockés.

Plus que dans n'importe quel autre domaine, la détermination de la qualité des denrées stockées, et notamment l'estimation de leur charge microbienne, exige des méthodologies nouvelles. Dr. King a insisté sur l'intérêt de nouveaux milieux pour l'isolement de différents groupes de moisissures des grains. Ces méthodes sont d'une valeur incontestable pour des déterminations spécifiques mais n'informent cependant pas sur la relation qui existe entre le développement de propagules fongiques, le pourcentage d'infection réelle du grain, la biomasse fongique et la qualité du grain qui peuvent être différentes selon les espèces de moisissures. La détermination de la biomasse par des méthodes chimiques a fait l'objet d'études à différentes reprises, mais elles restent cependant approximatives. Dans certaines limites, les mesures de la teneur en ergostérol (Marfleet et al.) permettent la détermination de la biomasse fongique. Il faut s'attendre à ce quelles soient remplacées prochainement par des dosages immuno-chimiques, comme c'est déjà le cas pour certaines mycotoxines (Ramakrishna et al.), soit pour déterminer la microflore totale, soit pour révéler des espèces particulières. Les métabolites volatiles (Sinha, session1) peuvent aussi être un moyen de détection d'invasion ou d'activités fongiques. Ils constituent aussi un sujet d'étude de grand intérêt par le rôle attractif ou répulsif qu'ils peuvent avoir sur les insectes et les acariens. Une identification précise des moisissures est indispensable (Kozakiewicz) pour estimer la qualité réelle du grain, évaluer le risque de mycotoxines, et révéler les risques pour la santé des travailleurs. Cependant, ces identifications doivent être basées sur une taxonomie reconnue par tous, taxonomie qui doit rester adaptée, autant que possible, aux mycologues de terrain qui ne possèdent pas d'équipements sophistiqués pour déterminer avec précision les caractéristiques morphologiques d'une spore par exemple.

La colonisation du grain débute juste après l'émergence de l'épi. Il y a eu peu d'études des durées de stockage sans dégâts, en fonction des conditions environnementales. Cependant, Hamer et al. ont démontré l'intérêt d'une méthode nouvelle d'analyse électrolytique de la respiration du grain, permettant la modélisation de périodes de séchages à l'air ambiant sans dégâts. D'autres études ont montré comment l'infection fongique et les produits agro-chimiques affectent non seulement la composition chimique mais également la teneur en aflatoxine de certaines graines (Farag); de quelle manière l'activité de l'eau et la température influencent la colonisation de l'orge par différentes espèces de la microflore en compétition, comment des interactions fongiques peuvent affecter la production de mycotoxines (Ramakrishna et al.); de quelle manière l'activité de l'eau et la température influencent la colonisation des moisissures et les pertes de matière sèche du colza (Magan et al.); comment les lipides

affectent la croissance des moisissures xérophiles (Lesage et al.) . Généralement, une production élevée d'aflatoxine, dans des céréales, est associée à un ratio hydrate de carbone + lipide / protéine élevé . En présence de certaines moisissures, la production d'aflatoxine dans les grains peut augmenter mais aussi diminuer, suivant les conditions du milieu dans lequel ils se trouvent, ou des traitements agro-chimiques qu'ils ont subis. Certaines huiles essentielles peuvent empêcher la croissance de moisissures et la production d'aflatoxine. Leur utilisation restera limitée à moins que l'on trouve les moyens financiers pour la réalisation de tests de conformité de ces substances nécessaires aux réglementations nationales des pesticides. Il est peu probable, en effet, que ces essais soient soutenus par des compagnies privées. Dans le maïs, les lipides favorisent la croissance des moisissures xérotolérantes. Toutes ces études montrent une nouvelle fois le besoin d'approfondir les recherches des effets de la colonisation fongique sur la qualité des grains.

Les moisissures des régions tempérées ont été classées, par commodité, en espèces du champ et espèces de stockage. Des études sur grain en régions humides tropicales ont montré que des espèces, considérées comme caractéristiques du stockage, peuvent être trouvées sur grain dans les champs, et peuvent également y former des mycotoxines. Une approche intégrée de lutte contre les moisissures doit tenir compte de ce fait. Mora a décrit de quelle manière, au Costa Rica, le maïs d'une région avait été contaminé par l'aflatoxine en quelques jours entre la récolte et le séchage. Cela semble lié au fait que le maïs a été égrainé immédiatement après la récolte, permettant ainsi à *Aspergillus flavus* de coloniser le grain endommagé. La lutte intégrée à l'aide de plusieurs paramètres abiotiques, utilisés simultanément, donne la possibilité d'interactions synergiques qui permettent d'éviter les traitements à des niveaux excessifs (Lacey et al.; Kennedy et al.). En général, la tolérance à un quelconque facteur défavorable est plus grande quand tous les autres paramètres sont à un niveau optimal. La synergie peut aussi apparaître entre différents acides organiques fongostatiques mais un traitement inadéquat peut conduire à une augmentation de la formation d'aflatoxines (Fanelli et al.). Les données sur le stockage en atmosphère modifiée, présentées dans ces communications, ont été enrichies par des études en Indonésie sur la toxicité du CO₂ de différentes moisissures du maïs grain stocké (Dharmaputra et al.). Les traitements à la chaleur suggérés pour le sorgho grain (More et al.) peut aussi être associé à d'autres traitements afin d'améliorer leur efficacité. La lutte biologique est une proposition intéressante puisqu'elle peut diminuer l'utilisation de produits chimiques. Cuero décrit, dans ce but, l'utilisation de *Bacillus subtilis* en combinaison avec le chitosan. Néanmoins, bien que la production d'aflatoxine ait diminué sur maïs, elle n'a pas été complètement évitée.

Les risques pour la santé liés aux grains stockés proviennent à la fois des poussières et des mycotoxines. Les causes de quelques maladies respiratoires, dans lesquelles la poussière de grain est impliquée, ont été identifiées. L'importance des spores de moisissures ou d'autres composés pouvant être responsables d'allergie aux poussières organiques ou de bronchite chronique pulmonaire n'est pas connue (Lacey). Des allergies causées par *Stachybotrys atra* ont été identifiées sur l'homme ainsi que des toxicoses sur animaux (Le Bars et al.) ; par ailleurs, l'aflatoxine a récemment été reconnue comme un problème sur les figes turques (Karapinar et Gonul).

D'une manière générale, le centre d'intérêt paraît se déplacer progressivement des aflatoxines vers une prise de conscience plus générale des conséquences de la microflore sur la qualité du grain. De nouvelles méthodes pourraient permettre une détermination plus précise:

- des effets des moisissures sur la qualité du grain
- des périodes de stockage sans risque à l'aide du séchage à l'air ambiant
- des combinaisons de différents traitements pour éviter le développement des moisissures.