

**MACROFUSINE ET MICROMONILINE: DEUX NOUVELLES MYCOTOXINES
ISOLÉES DE MAÏS INFESTÉ PAR *FUSARIUM MONILIFORME* Sheld.**

D. LAURENT ^(*), Nicole PLATZER ^(**), F. KOHLER ^(*),
M.P. SAUVIAT ^(***), F. PELLEGRIN ^(*)

**MACROFUSIN AND MICROMONILIN: TWO NEW MYCOTOXINS ISOLATED
FROM CORN INFESTED BY *FUSARIUM MONILIFORME* Sheld.**

Summary

Two new mycotoxins, macrofusin and micromonilin, have been isolated from macroconidies or microconidies of *Fusarium moniliforme* cultivated on corn. Macrofusin, given by oesophageal injection is toxic on rats and leads to icterus, but micromonilin acts on the sodium channel.

Hypothesis of the possible action of these toxins in equin leucoencephalomalacia and associated symptoms are discussed.

KEY-WORDS: Macrofusin - Micromonilin - Mycotoxins - Leucoencephalomalacia - *Fusarium moniliforme*.

En 1981, une épizootie s'est déclarée en Nouvelle Calédonie chez une quarantaine de chevaux, entraînant la mort de cinq d'entre eux. Les premières études suspectèrent une intoxication par du maïs fortement contaminé par *Fusarium moniliforme* (6). Deux ans plus tard, un nouveau cas d'empoisonnement permit de poser un diagnostic vétérinaire plus précis, montrant que le cheval était mort de leucoencéphalomalacie (LEM) après ingestion du maïs infesté par *Fusarium* (7). La leucoencéphalomalacie est une maladie équine caractérisée par des signes neurologiques (incoordination, marche sans but, cécité) dus à des lésions nécrotiques liquéfactives de la matière blanche des hémisphères cérébraux qui finissent par entraîner la mort. Son existence est connue depuis 1850 dans les régions céréalières des Etats Unis (2, 5, 20), où des milliers de chevaux sont morts dans le Maryland au début du siècle, et dans les états du Midwest durant les années 30. Plus récemment, en 1978-1979, des centaines de chevaux en furent victimes (4) et, en 1984-1985, de nombreux autres états furent touchés. Cette maladie a aussi été mentionnée en Argentine (19), en Chine (10), en Egypte (1), en Afrique du Sud (18) et en Europe (15, 18). La LEM, reproduite expérimentalement par ingestion de cultures pures de *F. moniliforme* chez des ânes ou des chevaux (4, 8, 11, 13, 21, 22), est associée à des lésions du foie. Quelques chevaux traités par de fortes doses sur des périodes relativement courtes présentèrent seulement les lésions hépatiques (11, 13, 16). L'administration nasooesophagienne d'un extrait aqueux d'une culture de maïs artificiellementensemencée avec *F. moniliforme* a induit chez un cheval une LEM, associée à des symptômes hépatiques (14). Jusqu'à

(*) Laboratoire de Phytopathologie, ORSTOM, BP A5, Nouméa, Nouvelle-Calédonie (F.).

(**) Laboratoire de Chimie Organique Structurale UA 455, Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), 4, Place Jussieu, 75230 Paris Cedex 05 (F.).

(***) Laboratoire de Physiologie Comparée associé au CNRS (URA 22), Université de Paris XI, Centre d'Orsay, 91405 Orsay Cedex (F.).

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire
N° : 43682.
Cote : B ex1

10 présent, les métabolites isolés de *F. moniliforme* (fig. 1a), la moniliformine (1) et l'acide fusarique (2), ont été testés sur le cheval sans induire la maladie (4, 8). Les autres mycotoxines fusarine C (3) et fusariocine C (4) isolées de *F. moniliforme* (3, 9) ne semblent pas non plus être responsables de ces manifestations pathologiques.

Dans le but de mettre en évidence la (ou les) toxine (s) responsable (s) du déclenchement de la LEM et des symptômes qui lui sont souvent associés, nous avons étudié les principes toxiques contenus dans l'extrait aqueux d'une culture sur maïs de *F. moniliforme* et isolé deux nouvelles mycotoxines: la macrofusine (5) et la micromoniline (6), dont les formules chimiques sont rapportées dans la figure 1b.

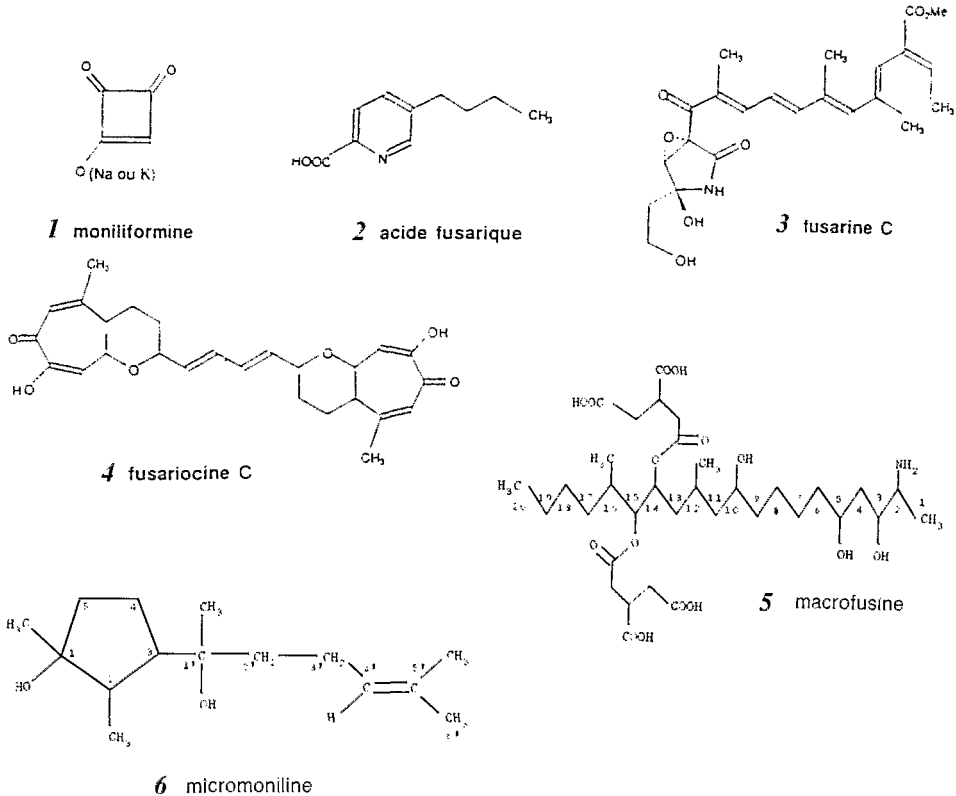


Figure 1 - Mycotoxines de *Fusarium moniliforme*

MATÉRIEL ET MÉTHODES

A) Isolement de la macrofusine

Fusarium moniliforme produit deux types de conidies distinctes: les macroconidies et les microconidies. La production de l'un ou l'autre de ces deux types peut être favorisée selon l'inoculum et les conditions de culture. Nous avons recherché les principes actifs contenus dans ces cultures.

Préparation de l'inoculum et de la culture - Une souche de *F. moniliforme* dont l'extrait aqueux a induit la LEM chez un cheval (14), est cultivée sur milieu Potatoes, Dextrose, Agar (PDA). Après 8 jours, les sporodochies sont isolées et une suspension de macroconidies est mise en culture sur PDA pendant 4 jours, induisant la formation du type pion-

notal. La gelée de macroconidies qui en résulte est mise en suspension pour servir d'inoculum à des grains de maïs en condition axénique. Les grains de maïs humidifiés à 30 % sont stérilisés pendant 90 min à 120°C. Après ensemencement avec la suspension de macroconidies, la culture est mise en incubation durant 20 jours à 25°C avec séchage progressif selon la méthode décrite par Kohler *et al.* (12).

Expression de la toxicité - A chaque étape du fractionnement, la toxicité des différents extraits est contrôlée. Les extraits ou fractions chromatographiques sont administrés en doses quotidiennes par sondage oesophagien à des lots de 4 rats de 20 jours de souche albinos Sprague Dawley pesant en moyenne 30 à 35 g. Au cours du fractionnement, les doses journalières sont préparées sur la base d'un équivalent de 7,6 g de culture fraîche, dissous dans 1 ml d'eau distillée. Pour les extraits peu solubles dans l'eau, une solution d'éthanol à 10 % est utilisée. Cette concentration est bien tolérée par les rats témoins.

Les substances pures sont testées selon une gamme de doses journalières de 0,5 à 50 mg pendant 12 jours. L'évolution pondérale des animaux est suivie quotidiennement avant l'administration des doses. Les résultats sont exprimés par les courbes des gains moyens quotidiens de poids, le nombre de décès et les temps moyens de survie.

Extraction et purification de la toxine (fig. 2) - La culture est extraite à l'eau distillée (1000 ml / 200 g) par broyage puis macération sous agitation pendant 5 h. Après centrifugation à 1500 rpm, le surnageant est concentré sous pression réduite puis précipité à l'éthanol à 95°. Le précipité est éliminé par centrifugation à 2000 rpm pendant 30 mn. Le surnageant est lyophilisé après élimination de l'alcool sous vide. L'extrait est alors dissous dans l'eau distillée puis déposé sur une colonne de résine Amberlite XAD2. La fraction toxique est éluée au méthanol qui est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est repris par l'éthanol absolu pour fournir une fraction enrichie en toxine.

Des chromatographies successives sur colonne de silice Lichroprep RP-8 (Merck) avec des mélanges éluants MeOH / H₂O (60:40) puis 70:30 permettent d'isoler une toxine appelée macrofusine (fig. 1, 5). La pureté du produit est vérifiée par chromatographies sur couches minces de silice HPTLC RP-8 F254 (Merck) dans le mélange de solvants MeOH / H₂O (70:30) et révélation par pulvérisation d'acide sulfurique - vanilline 2 %, puis chauffage à 100°C.

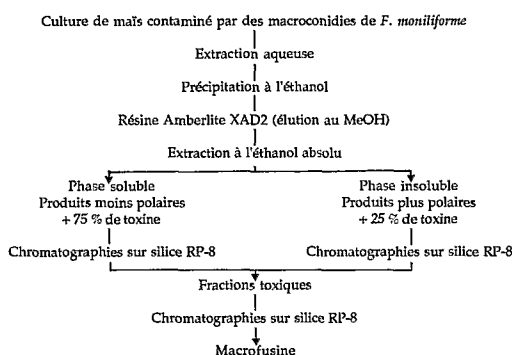


Figure 2 - Schéma de purification de la macrofusine

B) Isolement de la micromoniline

Préparation de l'inoculum et de la culture - La même souche de morphotype microconidial est cultivée sur PDA. Après 8 jours de croissance, la gélose est découpée et les morceaux sont placés dans une fiole d'eau stérile. Après agitation, la suspension de microconidies permet d'ensemencer les grains de maïs en condition axénique.

Les grains de maïs humidifiés à 80 % sont stérilisés pendant 90 min à 120°C. Après ensemencement, la culture est mise en incubation pendant 20 jours à 25°C.

12 **Extraction et purification de la micromoniline** (fig. 3) - Les étapes d'extraction aqueuse, de précipitation à l'éthanol et de filtration sur résine Amberlite sont identiques à celles pratiquées pour l'obtention de la macrofusine. La phase méthanolique évaporée est extraite par de l'eau distillée. L'insoluble est chromatographié sur colonne de silice 60 H (Merck) éluée par le solvant $\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{MeOH}$ (95:5). Les fractions contenant la micromoniline sont réunies et chromatographiées sur colonne de silice RP-8 Merck par le solvant d'élu-tion $\text{MeOH} / \text{H}_2\text{O}$ (80:20).

La pureté du produit est vérifiée par chromatographies sur couches minces de silice 60 F254 (Merck) ou silice HPTLC RP-8 F254 (Merck). La révélation s'effectue par pulvérisation d'acide sulfurique - vanilline 2%, suivie de chauffage à 100°C.

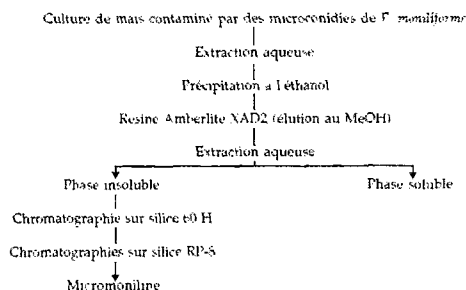


Figure 3 - Schéma de purification de la micromoniline

C) Analyse structurale des toxines

La structure de ces toxines a été établie par RMN^1H et RMN^{13}C . En ce qui concerne la macrofusine, il a été nécessaire de compléter l'étude de la toxine par celle de ses dérivés acétylé et méthoxylé. Les résultats établis grâce à l'utilisation conjointe des différentes techniques de la RMN à une et deux dimensions sont relevés dans le tableau I.

D) Analyse électrophysiologique des toxines

Les expériences sont réalisées sur des fibres musculaires coupées (100 à 150 μm de diamètre, 3 à 5 mm de longueur) isolées du muscle couturier de la patte de la grenouille placées dans les conditions de potentiel imposé à l'aide de la technique de la double partition de saccharose (17). La solution physiologique utilisée est dérivée de la solution de Ringer et possède la composition suivante (mM): NaCl : 110,5; KCl : 2,5; CaCl_2 : 2; tampon HEPES: 5; pH 7,3. Le potentiel de membrane est maintenu à -80mV et le courant transmembranaire est déclenché par l'intermédiaire d'un échelon de potentiel dépolari-sant de 80 mV à la fréquence de 0,2 Hz. Le courant sodium I_{Na} est mesuré au pic de courant entrant, le courant sortant à la fin de l'impulsion dépolari-sante.

RESULTATS ET DISCUSSION

Le fractionnement des extraits de culture sur maïs de macroconidies et de microconidies de *F. moniliforme* a conduit à l'isolement et à la caractérisation de deux mycotoxines.

La nouvelle mycotoxine, isolée de la culture de maïs artificiellement contaminée par un inoculum de macroconidies, la macrofusine (fig. 1b, 5), répond à la formule brute $\text{C}_{34}\text{H}_{59}\text{NO}_{15}$ et possède une masse de 721. Il s'agit d'un aminopolyol en C_{20} diméthylé et dont deux fonctions alcool sont estérifiées par le même triacide :

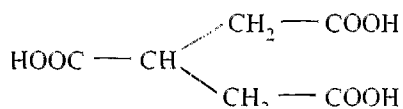


Tableau I - Caractérisation par RMN ^1H et ^{13}C
(déplacement chimique en ppm par rapport au tétraméthylsilane)
des macrofusine et micromoniline

Macrofusine (5)			Micromoniline (6)		
	^{13}C	^1H		^{13}C	^1H
(Chaîne principale)					
C1	15,98	1,28	C1	81,82	
C2	53,63	3,15	C2	45,11	1,59
C3	70,26	3,77	C3	55,11	1,82
C4	41,73	1,55	C4	25,01	1,78 et 1,60
C5	68,36	3,85	C5	41,26	1,64 et 1,49
C6 ^(a)	38,96	1,43	C'1	75,33	
C7 ^(b)	26,60	1,42	C'2	41,88	1,43 ^(c)
C8 ^(b)	26,76	1,40	C'3	23,58	2,02
C9 ^(a)	39,12	1,45	C'4	125,82	5,12
C10	69,78	3,63	C'5	131,64	
C11	44,42	1,47 et 1,12	C'6	26,06	1,67
C12	26,84	1,81	H ₃ C-1	26,25	1,21
C13	36,58	1,66 et 1,48	H ₃ C-2	15,45	1,01
C14	72,80	5,14	H ₃ C-1'	24,79	1,12
C15	79,58	4,95	H ₃ C-5'	17,87	1,61
C16	34,76	1,69			
C17	32,94	1,44 et 1,07			
C18	29,53	1,33 et 1,18			
C19	23,80	1,27			
C20	14,42	0,89			
Substituants ^(d)					
H ₃ C-12	20,75	0,96			
H ₃ C-16	15,90	0,94			
C — O	173,30				
O	173,5				
	177,0				
COOH	177,4				
	178,5				
	179,0				
CH ₂	36,90	2,78 et 2,59			
CH	39,67	3,14			
CH ₂	37,69	2,70 et 2,49			
CH ₂	37,14	2,70 et 2,43			
CH	39,67	3,14			
CH ₂	37,97	2,65 et 2,47			

a) b) Les valeurs correspondant au même sigle peuvent être inversées.

c) Deux protons non équivalents centre du multiplet.

d) L'attribution univoque des signaux correspondant aux deux acides qui estérifient deux fonctions alcools en 14 et 15 ne peut être obtenue.

L'implication d'un groupe carboxylique terminal dans la formation de l'ester a été établie en examinant en RMN¹³C le sel d'ammonium, préparé *in vitro* à cet effet, de la macrofusine.

Cette structure permet la formation de multiples liaisons hydrogènes intra et/ou intermoléculaires. Elle confère à la molécule une remarquable aptitude à complexer les cations métalliques.

Cette molécule, très polaire, est soluble dans l'eau et le méthanol. En chromatographie sur couche mince, ses Rf sur silice RP-8, dans les mélanges de solvants MeOH/H₂O (90:10) et (70:30) sont respectivement de 0.8 et 0.38, et, sur silice 60F254 de 0.11 avec le mélange CH₂Cl₂/MeOH/H₂O (67:28:5). Suivant la qualité de la culture (colonisation plus ou moins complète du substrat), la substance toxique est isolée avec un rendement de 0.4 à 0.8 % par rapport à l'extrait aqueux soit 0.025 à 0.05 % par rapport au poids de maïs frais mis en culture.

La figure 4 illustre l'effet de la macrofusine, administrée par sondage oesophagien, sur le poids des rats. Des doses de toxines de 0.5 et 1 mg ne modifient pas notablement la cinétique de la courbe de croissance qui demeure parallèle à celle des animaux témoins. Les animaux traités accusent cependant une diminution de poids par rapport aux témoins respectivement de l'ordre de 12 et 20 % au bout de 8 jours suivant la dose appliquée. A la dose journalière de 5 mg, le poids des rats reste stationnaire durant 4 jours pour croître ensuite selon un rythme proche de celui des témoins. Le poids des rats traités ne représente cependant que 57 % du poids des animaux témoins après 8 jours de traitement. L'administration de deux doses de 50 mg (soit environ 1.5 g/kg) ou de 4 à 5 doses de 10 mg (soit environ 0.3 g/kg) est nécessaire pour provoquer la mort, ce qui indique que la macrofusine possède une toxicité faible. L'autopsie de rats traités par les fortes doses montrent la présence d'un ictère très marqué; les oreilles et la face interne de la peau sont d'un jaune prononcé. La faiblesse de l'action toxique de la macrofusine est compensée par une très grande production de ce métabolite par *F. moniliforme* dans les conditions de culture favorisant la production de macroconidies.

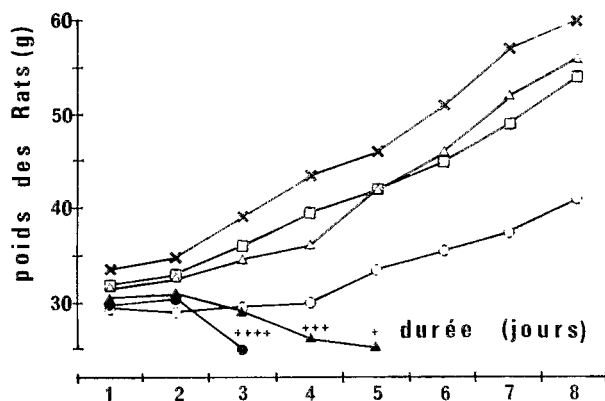


Figure 4 - Toxicité de la macrofusine chez le rat (+ = 1 mort)

(X): contrôles; (□) 0.5 mg; (◻) 1 mg; (○) 5 mg; (▲) 10 mg; (■) 50 mg.

Abscisse: poids des animaux; ordonnée: durée de l'application de la toxine par sondage oesophagien.

La micromoniline (fig. 1b, 6) est isolée d'une culture de maïs artificiellement contaminé par un inoculum de microconidies. De masse 240, elle répond à la formule brute C₁₅H₂₈O₂. Moins polaire que la macrofusine, la micromoniline est soluble dans le méthanol et les solvants chlorés. Ses Rf, dans les solvants CH₂Cl₂/Me OH (95:5) et MeOH/H₂O (80:20) sont respectivement de 0.3 et 0.45. Elle se révèle de couleur mauve

au contact du révélateur acide sulfurique - vanilline 2 % avant chauffage. La micromoniline est isolée avec un rendement inférieur à celui de la macrofusine; il est de l'ordre de 0,1 % de l'extrait aqueux, soit 0,005 % par rapport au poids de maïs frais.

L'administration de micromoniline par sondage oesophagien chez le rat ne semble pas provoquer d'action sur le poids des animaux à la dose journalière de 50 mg (soit environ 1,5 g / kg) sur 12 jours.

Les expériences de potentiel imposé montrent que la micromoniline se révèle plus efficace que la macrofusine pour inhiber le courant sodium. En présence de macrofusine (200 μg / ml) le pic de courant sodium et le courant sortant sont respectivement diminués de $49,8 \pm 7,3\%$ (n=6) et $21,7 \pm 7,2\%$ (n = 6). La micromoniline (2 μg / ml) inhibe le pic de courant sodium $33,1 \pm 6,6\%$ (n=6) sans notablement modifier le courant sortant.

Le présent travail met en évidence l'existence de deux nouvelles mycotoxines, la macrofusine et la micromoniline, isolées de grains de maïs ensemencés respectivement avec des inoculats de macroconidies et de microconidies de *F. moniliforme*. La structure de ces molécules ne présente aucune analogie avec celle des toxines ou métabolites précédemment isolés de champignon du genre *Fusarium*. Leur sensibilité est différente au niveau du canal sodium responsable de la phase de dépolarisation initiale du potentiel d'action.

Si l'on replace les deux types de toxicité, à savoir : i) l'action hépatotoxique de la macrofusine chez le rat, ii) l'action inhibitrice du courant sodium de la micromoniline, dans le contexte des symptômes enregistrés chez le cheval intoxiqué par du maïs contaminé par *F. moniliforme*, l'hypothèse selon laquelle la macrofusine serait responsable des symptômes hépatiques et la micromoniline des symptômes nerveux, peut être avancée. Cependant, une synergie entre les deux molécules doit aussi être envisagée.

Des études approfondies sont en cours pour vérifier cette hypothèse. Elles portent sur l'analyse électrophysiologique, l'anatomopathologie chez le rat intoxiqué, ainsi que sur la potentialité que possèdent ces toxines pour déclencher la leucoencéphalomalacie chez le cheval.

Addendum sur épreuves typographiques

Au moment de mettre sous presse, nous apprenons que l'équipe des Professeurs Marasas et Gelderblom vient de publier ses résultats concernant une nouvelle famille de mycotoxines isolées de *Fusarium moniliforme*: les fumonisines (23, 24, 25). Comparaisons faites, il s'avère que la macrofusine, décrite dans l'article ci-dessus, et la fumonisine B₁ sont similaires. Par contre, nos résultats (à paraître) sur l'association macrofusine / LEM équine ne sont pas identiques à ceux obtenus par l'équipe Sud Africaine. Ayant administré, *per os*, 11,4 g de macrofusine en 27 jours à une jument de 10 ans pesant 350 kg, les suivis cliniques, hématologiques et biochimiques pendant 37 jours n'ont permis de mettre en évidence qu'une faible élévation du taux sanguin d'urée, une légère élévation des enzymes de la fonction hépatique (transaminases, phosphatases alcalines, GT) et une nette éosinophilie. L'équipe Sud Africaine a obtenu une LEM caractérisée en administrant, par voie intraveineuse, 0,276 g de fumonisine B₁ à une jument de 310 kg en 10 jours. Ces résultats contradictoires posent naturellement le problème de la voie d'administration et, s'il semble peu contestable que la fumonisine B₁ (macrofusine) est bien la molécule responsable de la LEM équine, il reste à mettre en évidence les facteurs permettant son assimilation par les voies digestives.

REMERCIEMENTS

Nous remercions la CEE (DG XII) pour sa participation à la réalisation de ce programme.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) BADIALI C., MANDOU H. A.-Y., RADWAN A.I., HAMOY F.M., HELDEBRANDT P.K. - Moldy corn poisoning as the major cause of an encephalomalacia syndrome in egyptian equidae. *Amer. J. Vet. Res.*, 1968, **29** (10), 2029-2035.
- (2) BIESTER H.E., SCHWARTE L.H. - Moldy corn poisoning (Leucoencephalomalacia) in horses with history of previous attack as well as recovery from virus encephalomyelitis. *North Amer. Vet.*, 1939, **20**, 17-19.
- (3) BJELDANES L.F., WEIB L.A. - Mutagenic mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *Environm. Mut.*, 1980, **2**, 240-241.
- (4) BUCK W.B., HALIBURTON J.C., THILSTED J.P., LOCK T.F., VESONDER R.F. - Equine leucoencephalomalacia - comparative pathology of naturally occurring and experimental cases. *Am. ass. vet. lab. diagn.*, 1979, 22nd Ann. Proc., 239-258.
- (5) BUCKLEY S.S., MAC CULLUM W.G. - Acute haemorrhagic encephalitis prevalent among horses in Maryland. *Amer. Vet. Rev.*, 1901, **25**, 99-101.
- (6) DOMENECH J., BOCCAS B., PELLEGRIN F., LAURENT D., KOHLER F., MAGNOL J., LAMBERT C. - Etude de la fusariose du maïs a *Fusarium moniliforme* en Nouvelle-Calédonie et de la pathologie équine associée a la leucoencephalomalacie toxique. *Rev. Elev. Med. Vét. Pays Trop.*, 1984, **37** (3), 253-259.
- (7) DOMENECH J., BOCCAS B., PELLEGRIN F., LAURENT D., KOHLER F., MAGNOL J., LAMBERT C. - Equine leucoencephalomalacia in New Caledonia. *Aust. J. Vet.*, 1985, **62** (12), 422-423.
- (8) HALIBURTON J.C. - Preliminary investigations into the etiology and pathogenesis of equine leucoencephalomalacia. *Diss. Abstr. Intern.*, 1983, **43** (9), 2822.
- (9) ITO T. - Fusariocin C, a new cytotoxic substance produced by *Fusarium moniliforme*. *Agric. Biol. Chem.*, 1979, **43** (6), 1237-1242.
- (10) IWANOFF X., CHANG-KUO Y., SHIH-CHIEN F. - Uber die toxische encephalomalazie (moldy corn poisoning) der einhofer in China. *Arch. Exp. Vet. Med.*, 1957, **11**, 1033-1056.
- (11) KELLERMAN T.S., MARASAS W.F.O., PIENAAR J.C., NAUDE T.W. - A mycotoxicosis of equidae caused by *Fusarium moniliforme* Sheldon, a preliminary communication. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1972, **39** (4), 205-208.
- (12) KOHLER F., PELLEGRIN F., LAURENT D. - La toxicogénèse chez *Fusarium moniliforme*: Nouvelles observations. *Microbiologie Aliments Nutrition*, 1988, **6** (2), 165-169.
- (13) KRIEK N.P.J., KELLERMAN T.S., MARASAS W.F.O. - A comparative study of the toxicity of *Fusarium verticillioides* (*F. moniliforme*) to horses, primates, pigs, sheep and rats. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1981, **48**, 129-131.
- (14) LAURENT D., PELLEGRIN F., KOHLER F., FOUQUET L., LAMBERT C., BOCCAS B. - *Fusarium moniliforme* du maïs en Nouvelle-Calédonie: toxicologie animale. *Microbiologie Aliments Nutrition*, 1988, **6** (2), 159-164.
- (15) MAGNOL J.P., LE BARS J., QUERE J.P. - Leucoencephalomalacie (LEM) toxique chez le cheval. Un cas très probable en territoire métropolitain. *Rev. Med. Vet.*, 1983, **134** (5), 297-299.
- (16) MARASAS W.F.O., KELLERMAN T.S., PIENAAR J.C., NAUDE T.W. - Leucoencephalomalacia: a mycotoxicosis of equidae caused by *Fusarium moniliforme* Sheldon. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1976, **43** (3), 113-122.
- (17) PATER C., SAUVIAT M.P. - Voltage-clamp of cut end skeletal muscle fiber - a diffusion experiment. *Gen. Physiol. Biophys.*, 1987, **6**, 305-319.
- (18) PIENNAAR J.G., KELLERMAN T.S., MARASAS W.F.O. - Field outbreaks of leucoencephalomalacia in horses consuming maize infect by *Fusarium verticillioides* (*F. moniliforme*) in South Africa. *J. of the South African Vet. Assoc.*, 1981, **52** (1), 21-24.
- (19) RODRIGUEZ J.A. - Diferenciacion entre las enfermedades de los rastrojos y la meningio encefalomielitis infeccion de los equinos. *An. Soc. Rur. Arg.*, 1945, **69**, 305-307.
- (20) SCHWARTE L.H., BIESTER H.E., MURRAY C. - A disease of horses caused by feeding moldy corn. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 1937, **90**, 76-85.
- (21) WILSON B.J., MARONPOT R.R. - Causative fungus agent of leucoencephalomalacia in equine animals. *Vet. Rec.*, 1971, **88**, 484-486.
- (22) WILSON B.J., MARONPOT R.R., HILDEBRANDT P.K. - Equine leucoencephalomalacia. *J.A.V.M.A.*, 1973, **163** (11), 1293-1294.
- (23) BEZUIDENHOUT S.C., GELDERBLØM W.C.A., GORST-ALLMAN C.P., HORAK R.M., MARASAS W.F.O., SPITELLER G., VLEGGAR R. - Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1988, 743-745.
- (24) GELDERBLØM W.C.A., JASKIEWICZ K., MARASAS W.F.O., THIEL P.G., HORAK R.M., VLEGGAR R., KRIEK N.P.J. - Fumonisins - Novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1988, **54** (7), 1806-1811.
- (25) MARASAS W.F.O., KELLERMAN T.S., GELDERBLØM W.C.A., COETZER J.A.W., THIEL P.G., VAN DER LUGT J.J. - Leucoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B₁ isolated from *Fusarium moniliforme*. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1988, **55**, 197-203.