

Infección de *Fusarium verticillioides* y contenido de fumonisinas en granos de maíz de plantas con inflorescencias femeninas cubiertas y no cubiertas

***Fusarium verticillioides* infection and fumonisins content in maize grains with covered and uncovered female inflorescens**

Melina Sartori, Andrea Nesci, Miriam Etcheverry

Originales: *Recepción:* 06/02/2014 - *Aceptación:* 12/12/2014

Nota científica

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue comparar el recuento de *Fusarium verticillioides* y la acumulación de fumonisinas en mazorcas cubiertas y no cubiertas, bajo diferentes condiciones de humedad y temperatura. Se colocaron bolsas de papel permeable a la humedad sobre las inflorescencias femeninas. La cobertura de las inflorescencias femeninas no impidió la infección de los granos de maíz. Por otro lado, se detectaron diferencias significativas en el contenido de fumonisinas B₁ y B₂ entre granos de mazorcas cubiertas con respecto a los granos provenientes de mazorcas sin cubrir. Las condiciones de elevada humedad y temperatura generadas en las mazorcas cubiertas, favorecieron significativamente los niveles de fumonisinas. La información aportada sobre el nivel de infección del patógeno y la interacción de diferentes condiciones de temperatura y humedad que influyen en la síntesis de fumonisinas, permite seguir evaluando el comportamiento de *Fusarium* en el cultivo de maíz.

Palabras claves

maíz • recuento fúngico • toxinas • humedad • temperatura

Laboratorio de Ecología Microbiana, Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta Nacional 36 Km 601. Río Cuarto. C. P. 5800. Córdoba, Argentina.
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
msartori@exa.unrc.edu.ar

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the count of *Fusarium verticillioides* and fumonisins accumulation in ears covered and not covered under different conditions of moisture and temperature. Paper bags permeable to moisture were placed on female inflorescences. Female inflorescences covered did not prevent infection of maize kernels. Moreover, significant differences in fumonisins B₁ and B₂ were obtained between grains obtained from ears covered with respect to grains from ears uncovered. The conditions of high humidity and temperature generated in the ears covered, favored fumonisins levels significantly. The information provided on the level of infection of the pathogen and the interaction of different temperature and moisture conditions that influence the synthesis of fumonisins, allows continue evaluating the behavior of *Fusarium* in maize.

Keywords

maize • fungal count • toxins • moisture • temperature

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial se ha detectado la presencia de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (Teleomorph: *Gibberella moniliformis* Wineland) infectando el cultivo de maíz.

Las interacciones biológicas entre la planta de maíz y *F. verticillioides* son complejas (20). Este patógeno puede invadir la planta de maíz por diferentes vías de infección (3, 9, 19). Cuando el cultivo desarrolla bajo condiciones de estrés, la interacción patógeno-planta puede desencadenar en desarrollo de enfermedad y/o producción de micotoxinas (1, 2).

F. verticillioides es considerado un importante patógeno productor de toxinas, las fumonisinas. Las fumonisinas tienen una alta toxicidad para seres humanos y animales, produciendo efectos cancerígenos, teratogénicos y mutagénicos (13, 16). Entre las principales variables ambientales que intervienen en esta interrelación microorganismo-planta, la disponibilidad acuosa y la temperatura poseen una incidencia fundamental. Es por ello que conocer el nivel de infección

de *F. verticillioides* en granos de maíz en madurez fisiológica, bajo las variables ambientales en condiciones de campo, permitiría avanzar en la comprensión de un aspecto de la interacción biológica entre la planta de maíz y el patógeno.

Objetivo

Comparar el recuento de *F. verticillioides* y la acumulación de fumonisinas en mazorcas cubiertas y no cubiertas, bajo diferentes condiciones de humedad y temperatura.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del inóculo fúngico

Se inoculó un Erlenmeyer (500 mL) conteniendo 100 mL de medio de esporulación Capellini – Peterson (6), con un taco de agar hojas de clavel (AHC) (21) de 6 mm con crecimiento de *F. verticillioides* M7075. La cepa de *F. verticillioides* M7075 es productora de fumonisina B₁ (Colección de Pennsylvania

State University, University Park, PA, USA). El Erlenmeyer se incubó a 25°C durante 7 días en agitación (200 rpm). Luego se determinó la concentración de esporas a través del método de recuento en placa, en agar Nash-Snyder (21). Suspensiones del inóculo fueron diluidas en ClNa 0,8 % v/v para obtener 10^7 esporas mL⁻¹ (22, 23).

Siembra

El ensayo se llevó a cabo en el campo experimental de la Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC), en Río Cuarto (30°57' de latitud S, 64°50' W de longitud, altitud 562 m) con suelo de textura franco arenoso. La siembra de las simientes DK 747 MG RR2 (curadas con fungicida: fludioxonil + metalaxil, e insecticida: clothianidín, Monsanto, Argentina) tuvo lugar en el mes de diciembre de 2010. Se realizó una aplicación del herbicida glifosato (2,5 L/ha) en toda la parcela, una semana después de la siembra de acuerdo con las prácticas agrícolas comúnmente utilizadas para cultivares Roundup Resistentes (RR). Los tratamientos se plantaron en tres bloques al azar por triplicado para cada uno, en parcelas de 7 x 3 m separados por borduras de 1,5 m. En cada parcela se marcaron cuatro surcos a 0,5 m de distancia, se sembraron 25 semillas a 25 cm de distancia, con un total de 100 semillas por parcela. Para el cultivar en uso (DK 747 MG RR2), desde el inicio de liberación de polen (VT) hasta la germinación de los mismos sobre los estilos emergidos (R1), son suficientes 4 días cuando los factores medioambientales son predisponentes (24). Por ello, a partir del cuarto día de floración de la inflorescencia masculina, se colocaron sobre las inflorescencias femeninas bolsas especiales de papel Kraft (intemperie^R) permeables a la humedad con una porosidad <3 µm (en 15 plantas por parcela), las cuales se dejaron hasta la cosecha de las mazorcas.

Se examinaron cuatro tratamientos: granos de maíz con mazorcas sin cobertura (infección natural, sin inoculación) (T1), maíz con mazorcas cubiertas (infección natural, sin inoculación) (T1*), maíz con mazorcas sin cobertura + *F. verticillioides* (infección natural + inoculación artificial) (T2) y maíz con mazorcas cubiertas + *F. verticillioides* (infección natural + inoculación artificial) (T2*). En tratamientos con *F. verticillioides* la inoculación se realizó previo a la siembra, adicionando una suspensión del patógeno (1×10^7 esporas mL⁻¹) a las semillas (100 µL / 20 semillas). El método de inoculación utilizado permite causar una infección efectiva (19), un incremento en el recuento del patógeno (8, 22, 23) e incrementar los niveles de fumonisinas (22, 23), en los granos maduros. Se registró la temperatura máxima y mínima del aire y suelo, y las precipitaciones diarias acumuladas durante el período del cultivo, a través de la estación agrometeorológica ADCON Telemetry ubicada en el campus de la UNRC. Además se realizaron mediciones de la temperatura del aire dentro de la bolsa. Periódicamente se registró el contenido de agua de los granos de maíz, midiendo la actividad acuosa (a_w) desde la floración hasta la madurez fisiológica del cultivo, utilizando un equipo Aqualab (series 4, TE, USA).

Cosecha y muestreo

La cosecha se realizó en madurez fisiológica del cultivo, 160 días luego de la siembra (junio de 2011), con granos conteniendo un 14% de humedad (0,70 a_w). Se recolectaron todas las mazorcas de todas las plantas, con y sin cobertura. Las mazorcas de cada parcela se desgranaron en una trilladora estática (Forti MA. Ind. Argentina) y posteriormente los granos se molieron en un molino eléctrico industrial

(RAS Mill, Romer Labs, USA), obteniendo muestras homogéneas de cada tratamiento con y sin cobertura de la mazorca. Se separó una muestra primaria de 5 K de cada parcela, a partir de la cual se determinaron las unidades formadoras de colonias (UFC) de *F. verticillioides*, luego sub-muestras de 500 g obtenidas por cuarteo se almacenaron a -20°C para la posterior determinación del contenido de fumonisinas (22).

Aislamiento y cuantificación de *F. verticillioides* en granos de maíz

Para determinar el recuento de *F. verticillioides* en granos cosechados, tres muestras de 10 g de cada parcela se colocaron separadamente en 90 mL de una solución estéril de buffer fosfato salino (BPS: ClNa 8 g, ClK 0,2 g, Na₂HPO₄ 1,15 g, KH₂PO₄ 0,2 g, agua destilada 1000 mL, pH 7,3), obteniendo una dilución 1/10, a partir de la cual se realizaron diluciones seriadas al décimo hasta 10⁻². Una alícuota de 0,1 mL de cada dilución se sembró por duplicado en placas de Petri con medio Nash-Snyder (21), selectivo para aislar especies de *Fusarium*.

Las placas se incubaron a 25°C durante 7 días, luego las colonias se transfirieron a agar hojas de clavel (AHC) (21) y se incubaron a 25°C con ciclos alternativos de 12 h de luz blanca durante 7 días. Se realizó la identificación de cada aislamiento acorde a Nelson *et al.* (1983) y Leslie y Summerell (2006). Posteriormente se determinó el recuento de *F. verticillioides* para cada tratamiento expresado como log₁₀ por g de maíz.

Determinación de fumonisinas B₁ y B₂

La concentración de ambas toxinas se determinó por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), de acuerdo con el método oficial AOAC N° 995.15, basado en Shephard *et al.* (1990) con modificaciones de Doko *et al.* (1995).

Fueron analizadas 2 sub-muestras de 15 g de maíz molido de cada parcela. Se realizaron 2 determinaciones por muestra. Límite de detección del método: 20 ng/g.

Análisis estadístico

El análisis de la varianza (ANOVA) para las UFC de *F. verticillioides* y el contenido de fumonisinas se realizó utilizando InfoStat versión 2012 (10), test DGC ($P < 0,001$).

Se analizaron las posibles correlaciones entre el contenido de fumonisinas, las UFC de *F. verticillioides* y la cobertura de las mazorcas analizando los coeficientes de correlación de Pearson.

RESULTADOS

Registro de precipitaciones y temperaturas

Como se muestra en la figura 1 (pág. 255) durante la temporada de cultivo 2010/2011 se registraron importantes precipitaciones distribuidas uniformemente entre los meses de diciembre a marzo (total 561 mm).

La temperatura media del aire varió entre 20 y 23°C durante los meses de verano (diciembre a febrero), y entre 15 y 20°C durante los meses de febrero a mayo.

Registros de temperatura y humedad en los granos durante el cultivo

En la figura 2 (pág. 255) se grafica la temperatura del aire y del interior de la bolsa sobre las mazorcas, las cuales fueron registradas desde la floración (15 de marzo) hasta la madurez fisiológica del cultivo (5 de junio).

El rango de temperatura en el interior de la bolsa osciló entre 19 y 35°C, mientras que el rango de la temperatura del aire fue menor (14 y 30°C).

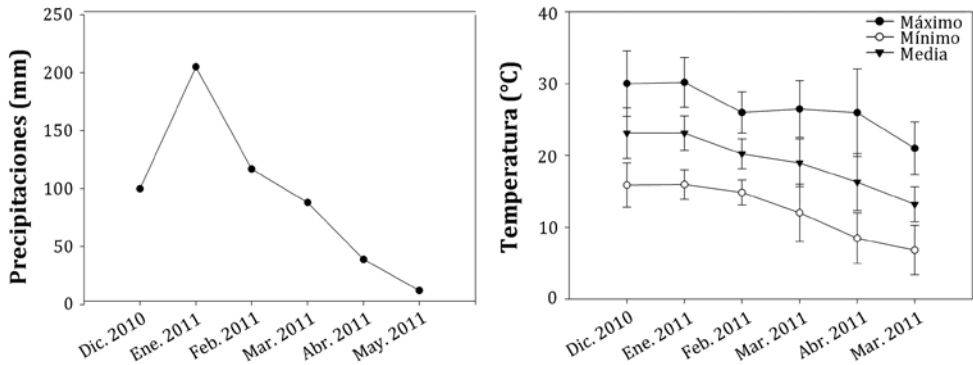


Figura 1. Precipitaciones acumuladas mensualmente (mm) y temperatura del aire (°C) registradas durante la campaña a campo desde diciembre (2010) a mayo (2011).

Figure 1. Cumulative monthly rainfall (mm) and air temperature (°C) recorded during the field season from December (2010) to May (2011).

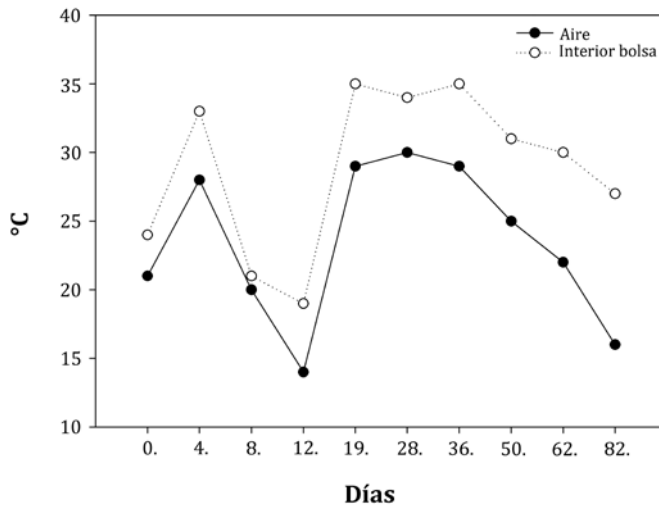


Figura 2. Registro de temperatura del aire y temperatura interior de las bolsas de papel colocadas sobre mazorcas desde la floración (día 0: febrero) hasta madurez fisiológica del cultivo (día 82: mayo).

Figure 2. Air temperature and inside paper bags temperature over ears from flowering (day 0: February) to physiological maturity of the crop (day 82: May).

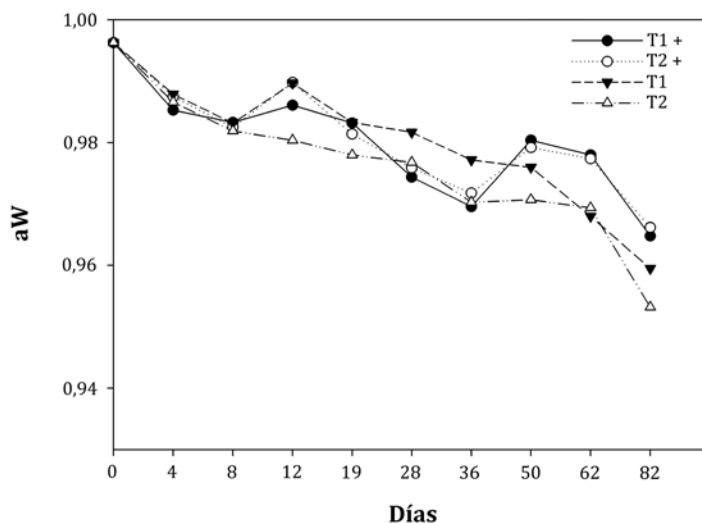
Se observó que la temperatura en el interior de la bolsa, siempre fue más elevada (alrededor de 5°C) que la temperatura del aire registrada, especialmente en los días de sol.

La figura 3 muestra la a_w de los granos de mazorcas cubiertas con bolsas y sin cubrir, de ambos tratamientos, desde el momento de la floración hasta la madurez fisiológica. En la misma se observa que en los tratamientos 1 y 2 sin cubrir, la a_w de los granos tuvo un descenso paulatino. T1 muestra una a_w inicial de 0,99 la cual descendió hasta 0,95 a los 82 días después de la floración. Este valor fue similar

al registrado en T2 (0,95) en el mismo tiempo de muestreo.

En los tratamientos 1 y 2 con las mazorcas cubiertas se observa mayor cantidad de agua disponible en los granos, la cual osciló entre 0,99 y 0,96. En general se observó una marcada disminución de la a_w desde el día 12 al 36.

En el día 50 se produjo un incremento, para finalmente descender hasta el momento de la cosecha. En el último tiempo de muestreo los tratamientos con la bolsa registraron mayor a_w (0,96) que las mazorcas sin cubrir (0,95).



T1: granos de maíz con mazorcas sin cobertura (infección natural, sin inoculación); T1*: maíz con mazorcas cubiertas (infección natural, sin inoculación); T2: maíz con mazorcas sin cobertura + *F. verticillioides* (infección natural + inoculación artificial); T2*: maíz con mazorcas cubiertas + *F. verticillioides* (infección natural + inoculación artificial).

T1: maize grains with uncovered cobs (natural infection, without inoculation); T1*: maize with covered cobs (natural infection, without inoculation); T2: maize with uncovered cobs + *F. verticillioides* (natural infection + artificial inoculation); T2*: maize with covered cobs + *F. verticillioides* (natural infection + artificial inoculation).

Figura 3. Actividad acuosa (a_w) de los granos de mazorcas cubiertas y no cubiertas en diferentes tratamientos, registrada desde la floración (día 0: febrero) hasta la madurez fisiológica del cultivo (día 82: mayo).

Figure 3. Water activity (a_w) of grains of covered and uncovered ears in different treatments, from flowering (0 day=February) to physiological maturity of the crop (82 day=May).

Recuento de *F. verticillioides* en granos de maíz cosechados

El recuento medio de UFC de *F. verticillioides* en granos cosechados, proveniente de simientes inoculadas con *F. verticillioides* M7075 fue 5 log UFC/g, mientras que el valor medio de UFC de *F. verticillioides* en granos provenientes de simientes sin inoculación artificial fue de 4 log UFC/g.

En la figura 4 se grafica el recuento de *F. verticillioides* en ambos tratamientos, con mazorcas cubiertas y no cubiertas. El número de UFC de *F. verticillioides* obtenido en granos del tratamiento 2 (plantas de simientes inoculadas con *F. verticillioides*) fue significativamente mayor, con 5,6 log UFC, que el valor del tratamiento control (T1 sin bolsa) que fue de 4,8 log UFC/g. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas

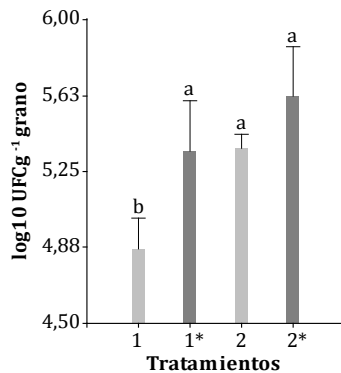
en el recuento obtenido al comparar T2 (con y sin bolsa, infección natural + inoculación artificial), con T1* (con mazorcas cubiertas, infección natural sin inoculación).

Identificación de especies de *Fusarium* Sección *Liseola*

F. verticillioides fue la especie que predominó en los granos de maíz, siendo la única identificada en los tratamientos en los que no se cubrieron las mazorcas (tabla 1, pág. 258). En los granos provenientes de mazorcas cubiertas, predominó *F. verticillioides* pero también se aislaron e identificaron las especies *F. proliferatum* y *F. subglutinans*.

Contenido de fumonisinas

En la figura 5 (pág. 258) se muestran los valores de fumonisinas detectados en granos de maíz en los diferentes tratamientos.



Los datos representan la media y el desvío estándar de las réplicas de los tratamientos. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0,0001$). T1: granos de maíz con mazorcas sin cobertura (infección natural, sin inoculación); T1*: maíz con mazorcas cubiertas (infección natural, sin inoculación); T2: maíz con mazorcas sin cobertura + *F. verticillioides* (infección natural + inoculación artificial); T2*: maíz con mazorcas cubiertas + *F. verticillioides* (infección natural + inoculación artificial).

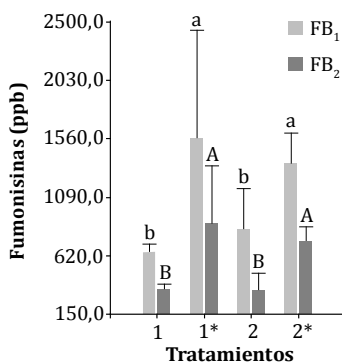
Data represent mean and standard deviations of treatments replication. Different letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.0001$). T1: maize grains with uncovered cobs (natural infection, without inoculation); T1*: maize with covered cobs (natural infection, without inoculation); T2: maize with uncovered cobs + *F. verticillioides* (natural infection + artificial inoculation); T2*: maize with covered cobs + *F. verticillioides* (natural infection + artificial inoculation).

Figura 4. Unidades formadoras de colonias de *F. verticillioides* en granos de maíz a cosecha.

Figure 4. Number of colony forming units of *F. verticillioides* in maize grains.

Tabla 1. Especies del género *Fusarium* identificadas por bloques.**Table 1.** *Fusarium* species identified by blocks.

	Especie
Bloque I	100 % <i>F. verticillioides</i>
Bloque II	100 % <i>F. verticillioides</i>
Bloque III	100 % <i>F. verticillioides</i>
Bloque I con bolsa	99 % <i>F. verticillioides</i> – 1% <i>F. proliferatum</i>
Bloque II con bolsa	98 % <i>F. verticillioides</i> – 2 % <i>F. subglutinans</i>
Bloque III con bolsa	100 % <i>F. verticillioides</i>



Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos, con y sin bolsa (si - no), en el contenido de FB₁. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos, con y sin bolsa (si - no), en el contenido de FB₂ ($P < 0.05$). T1: granos de maíz con mazorcas sin cobertura (infección natural, sin inoculación); T1*: maíz con mazorcas cubiertas (infección natural, sin inoculación); T2: maíz con mazorcas sin cobertura + *F. verticillioides* (infección natural + inoculación artificial); T2*: maíz con mazorcas cubiertas + *F. verticillioides* (infección natural + inoculación artificial).

Different small letters indicate significant differences between treatments covered and uncovered with paper bag on the FB₁ content. Different capital letters indicate significant differences between treatments covered and uncovered with paper bag on the FB₂ content ($P < 0.05$). T1: maize grains with uncovered cobs (natural infection, without inoculation); T1*: maize with covered cobs (natural infection, without inoculation); T2: maize with uncovered cobs + *F. verticillioides* (natural infection + artificial inoculation); T2*: maize with covered cobs + *F. verticillioides* (natural infection + artificial inoculation).

Figura 5. Valores promedio de FB₁ y FB₂ en tres bloques aleatorios.**Figure 5.** FB₁ and FB₂ mean values in three randomized blocks.

No se observaron diferencias significativas en el contenido de fumonisinas en granos provenientes de plantas desarrolladas de simientes no inoculadas (T1) e inoculadas con el patógeno (T2), al analizar los tratamientos donde se utilizaron bolsas para cubrir las mazorcas. Este mismo comportamiento se observó entre los tratamientos 1 y 2 donde no se cubrieron las mazorcas. Sin embargo, sí se observaron diferencias significativas en el contenido de fumonisinas entre el tratamiento 1 cubierto con bolsa y el mismo tratamiento sin cubrir, ambos correspondientes a infecciones naturales.

También se observan diferencias significativas al comparar el tratamiento 2 con y sin bolsa, ambos correspondientes a infecciones artificiales.

Para T1 (con bolsa) se determinó una media de 1570 ppb de FB_1 y 885 ppb de FB_2 , mientras que en el mismo tratamiento pero sin bolsas los valores fueron 654 ppb y 322 ppb de FB_1 y FB_2 , respectivamente. En el tratamiento 2 los mayores valores de fumonisinas B_1 y B_2 (1360 ppb y 744 ppb, respectivamente) se detectaron en granos provenientes de mazorcas cubiertas (inoculadas artificialmente).

La presencia de la bolsa de papel Kraft en ambos tratamientos tuvo un efecto significativo en el contenido de toxina de los granos, acorde al test DGC.

Se determinó una correlación positiva entre las UFC de *F. verticillioides* y el contenido de fumonisinas ($r = 0,891$; $P = 0,300$) en granos de plantas crecidas de semillas inoculadas y no inoculadas con el patógeno, sin embargo dicha correlación no fue significativa ($P > 0,05$).

Por otro lado, se observó una correlación positiva y significativa entre el contenido de FB_1 y FB_2 y la incidencia de *F. verticillioides* en tratamientos con mazorcas cubiertas ($r = 0,99$; $P = 0,0305$).

CONCLUSIONES

Sobre la base de los resultados obtenidos se puede inferir que la cobertura de las inflorescencias femeninas desde la floración hasta la cosecha, no impidió la infección de los granos de maíz. Esto se debe a que una fuente de inóculo proviene de los micro y macro conidios dispersados por el aire y por gotas que llegan junto con el polen desde la panoja (estadio VT) a los estilos emergidos (estadio R1) (20), y esto puede suceder en los cuatro días previos a la colocación de las coberturas sobre las inflorescencias femeninas, tiempo necesario para la germinación del polen sobre los estilos emergidos (R1) (24).

Otra fuente de inóculo proviene de la infección sistémica a través de la transmisión desde las semillas o raíces, tallos u hojas (20).

En el interior de las bolsas que cubrieron las mazorcas, la temperatura se mantuvo aproximadamente 5°C por encima de la temperatura aérea externa y la a_w sufrió fluctuaciones y permaneció más elevada que en mazorcas no cubiertas. Los rangos de a_w (0,95-1) y de temperatura (19-35°C) que se registraron en mazorcas cubiertas, desde la floración hasta la madurez fisiológica, favorecieron el incremento de los niveles de fumonisinas en los granos cosechados, los cuales fueron mayores al límite máximo regulado para consumo humano (7).

Velluti *et al.* (2000) al estudiar la competencia de especies fúngicas presentes en el maíz, demostraron que la velocidad de crecimiento de *F. verticillioides* fue mayor a 25°C, mientras que a 15°C el crecimiento se redujo, y a temperatura constante la velocidad de crecimiento aumentó con el incremento de la a_w .

Por otro lado, Marín *et al.* (1999) demostraron que la condición óptima para la síntesis de fumonisinas fue a 30°C y a_w 0,98. En una recopilación

bibliográfica realizada por Maiorano *et al.* (2009), se muestra que la a_w óptima para la síntesis de fumonisinas es $> 0 = 0,99$, con un rango de temperatura óptima de 25 a 30°C. Es importante destacar que toda esta información corresponde a trabajos realizados *in vitro*. A nivel de campo durante la campaña 2007/2008, en la zona agroecológica de Río Cuarto, Córdoba, se obtuvo un alto contenido de fumonisinas, coincidiendo con abundantes lluvias desde la floración hasta la madurez del cultivo (22). Resultados obtenidos por Fandohan *et al.* (2005) y Bush *et al.* (2004), también demostraron un incremento de los niveles de fumonisinas asociado con las lluvias tardías. En el mismo campo experimental de la UNRC utilizado para este estudio, durante la campaña de cultivo 2009-2010, se observó que por la falta de lluvias el contenido de fumonisinas en granos cosechados fue menor (25). En el presente trabajo, durante la campaña 2010/2011, los resultados muestran la misma tendencia en cuanto a la relación entre el contenido de

fumonisinias y las condiciones climáticas, que los estudios de Pereira *et al.* (2009), Fandohan *et al.* (2005) y Bush *et al.* (2004). Las condiciones de cultivo con las bolsas sobre las mazorcas (alta humedad y alta temperatura), favorecieron significativamente el incremento de los niveles de fumonisinas. En contraste, otros autores (18, 28) demostraron que el contenido de fumonisinas en maíz, está limitado al bajo contenido de humedad. Ellos sugieren que es posible que la condición de estrés que sufre el patógeno en el grano y el cultivo en el campo, sea lo que favorece la producción de la toxina y no necesariamente el contenido de humedad (4). Evidentemente, múltiples factores, además de la temperatura, el contenido de humedad y la incidencia del patógeno, condicionan la acumulación de fumonisinas en maíz a campo. Por lo tanto, datos aportados sobre algunos de estos parámetros, permiten seguir evaluando el comportamiento de este patógeno en el cultivo de maíz.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abbas, H.; Cartwright, R.; Shier, W. 2006. Aflatoxin and fumonisin contamination of corn (maize, *Zea mays*) hybrids in Arkansas. *Crop Prot.* 25: 1-9.
2. Bacon, C.; Nelson, P. 1994. Fumonisin production in corn by toxigenic strains of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum*. *J Food Protect.* 57: 514-521.
3. Bacon, C.; Hinton, D. 1996. Symptomless endophytic colonization of maize by *Fusarium moniliforme*. *Can J Bot.* 74: 1195-1202.
4. Bacon, C.; Glenn, A.; Yates, I. 2008. *Fusarium verticillioides*: managing the endophytic association with maize for reduced fumonisins accumulation. *Tox Rev.* 27: 411-446.
5. Bush, B.; Carson, M.; Cubeta, M.; Hagler, W.; Payne, G. 2004. Infection and fumonisin production by *Fusarium verticillioides* in developing maize kernels. *Phytopathol.* 94: 88-93.
6. Capellini, R.; Peterson, J. 1965. Macroconidium formation in submerged cultures by sporulating strain of *Giberella zeae*. *Micology.* 57: 962-966.
7. CE (Comisión Europea) 2007. Commission Regulation 1126/(2007) setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards *Fusarium* toxins in maize and maize products. *Official J Eur Union.* 255: 14-17.
8. Desjardins, A.; Munkvold, G.; Plattner, R.; Proctor, R. 2002. FUM1- a gene required for fumonisin biosynthesis but not for maize ear rot and ear infection by *Gibberella moniliformis* in field tests. *Mol Plant-Microbe In.* 15: 1157-1164.

9. Desjardins, A.; Plattner, R.; Lu, M.; Claffin, L. 1998. Distribution of fumonisins in maize ears infected with strains of *Fusarium moniliforme* that differ in fumonisin production. *Plant Dis.* 82: 953-958.
10. Di Rienzo, J.; Casanoves, F.; Balzarini, M.; González, L.; Tablada M.; Robledo C. 2012. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
11. Doko, M.; Rapior, S.; Visconti, A.; Schjoth, J. 1995. Incidence and levels of fumonisin contamination maize genotypes grown in Europe and Africa. *J Agric Food Chem.* 43: 429-434.
12. Fandohan, P.; Gnonlonfin, B.; Hell, K.; Marasas, W.; Wingfield, M. 2005. Natural occurrence of *Fusarium* and subsequent fumonisin contamination in preharvest and stored maize in Benin, West Africa. *Int J Food Microbiol.* 99: 173-183.
13. Gelderblom, W.; Kriek, N.; Marasas, W.; Thiel, P. 1992. Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B₁ in rats. *Carcinogenesis* 12: 1247-1251.
14. Leslie, J.; Summerell, B. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Oxford UK: Blackwell Publishing. 338 p.
15. Maiorano, A.; Reyneri, A.; Sacco, D.; Magni, A.; Ramponi, C. 2009. A dynamic risk assessment model (FUMAgrain) of fumonisin synthesis by *Fusarium verticillioides* in maize grain in Italy. *Crop Prot.* 28: 243-256.
16. Marasas, W. 1993. Occurrence of *Fusarium moniliforme* and fumonisins in maize in relation to human health. *South Afric Med J.* 83: 382-382.
17. Marin, S.; Homedes, V.; Sanchis, V.; Ramos, A.; Magan, N. 1999. Impact of *Fusarium moniliforme* and *F. proliferatum* colonisation of maize on calorific losses and fumonisin production under different environmental conditions. *J Stored Prod Res.* 35: 15-26.
18. Miller, J.; Savard, M.; Schaafsma, K.; Seifert, K.; Reid, L. 1995. Mycotoxin production by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* from Ontario and occurrence of fumonisin in the 1993 corn crop. *Can J Plant Pathol.* 17: 233-239.
19. Munkvold, G.; Desjardins, A. 1997. Fumonisins in maize – can we reduce their occurrence? *Plant Dis.* 81(6): 556-565.
20. Munkvold, G.P.; McGee, D.C.; Carlton, W.M., 1997. Importance of different pathways for maize kernel infection by *Fusarium moniliforme*. *Phytopathol* 87(2): 209-217.
21. Nelson, P.; Toussoun, T.; Marasas, W. 1983. *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for identification, The Pennsylvania State Univ. Press, University park, PA/London.
22. Pereira, P.; Nesci, A.; Etcheverry, M. 2009. Efficacy of bacterial seed treatments for the control of *Fusarium verticillioides* in maize. *BioControl.* 54: 103-111.
23. Pereira, P.; Nesci, A.; Castillo, C.; Etcheverry, M. 2010. Impact of bacterial biological control agents on fumonisin B1 content and *Fusarium verticillioides* infection of field-grown maize. *Biol Control* 53: 258-266.
24. Rivas, J. C. (2010). Evaluación de materiales RR de maíz. URL http://inta.gov.ar/documentos/evaluacion-de-materiales-rr-de-maiz-eea-inta-h.-ascasubi-2009-10/at_multi_download/file/INTA-20EvalmaizRR10.pdf
25. Sartori, M.; Nesci, A.; Castillo, C.; Etcheverry, M. 2013. Biological control of fumonisins production in maize at field level. *Int J Agric Policy Res.* 1(7): 188-196.
26. Shephard, G.; Sydenham, E.; Thiel, P.; Gelderblom, W. 1990. Quantitative determination of fumonisin B₁ and B₂ by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Liquid Chrom.* 13: 2077-2087.
27. Velluti, A.; Marin, S.; Bettucci, L.; Ramos, A.; Sanchis, V. 2000. The effect of fungal competition of maize grain by *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum* and *F. graminearum* and on fumonisin B₁ and zearalenone formation. *Int J Food Microbiol.* 59: 59-66.
28. Warfield, C.; Gilchrist, D. 1999. Influence of kernel age on fumonisin B₁ production in maize by *Fusarium moniliforme*. *Appl Environ Microbiol.* 65(7): 2853-2856.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCYT) FONCYT-PICT START-UP 1521/06 y SECYT-UNRC 2009-2010 (Res. 807/09).