



Factores ambientales que afectan el contenido de fumonisina en granos de maíz

Malvina Martínez¹, Ricardo Moschini¹, Dora Barreto², Jose Bodega³, Ricardo Comerio², Horacio Forjan⁴, Federico Piatti⁵, Daniel Presello⁶ & Oscar Valentinuz⁷

¹Instituto de Clima y Agua; ²Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, INTA Castelar, Castelar, Buenos Aires, Argentina; ³Estación Experimental INTA Balcarce, Balcarce, Buenos Aires, Argentina; ⁴Chacra Experimental Integrada Barrow, Tres Arroyos, Buenos Aires, Argentina; ⁵Estación Experimental INTA Manfredi, Manfredi, Córdoba, Argentina; ⁶Estación Experimental INTA Pergamino, Pergamino, Buenos Aires, Argentina; ⁷Estación Experimental INTA Paraná, Oro Verde, Entre Ríos, Argentina

Autor para correspondencia: Malvina I. Martínez, e-mail: mmartinez@cni.inta.gov.ar

RESUMEN

Técnicas de regresión logística fueron utilizadas para estudiar las variables meteorológicas asociadas al contenido de fumonisinas en grano de maíz. La variable dependiente consistió en 29 valores de contenido de fumonisina B₁ y B₂ (FB₁ y FB₂) provenientes de muestras de un híbrido susceptible sembrado en varios sitios de la región pampeana, desde 2006/07 a 2008/09. Las variables meteorológicas fueron procesadas alrededor de la aparición de estigmas. La variable Np2 (número de períodos de dos días con registro simultáneo de lluvia y humedad relativa $\geq 81\%$, día 1, y humedad relativa $> 70\%$ en el segundo día) resultó la más fuertemente correlacionada con el contenido de FB₁ y FB₂ (coeficiente de Kendall: τ : 0,63 y 0,52 respectivamente) y fue incluida en modelos de regresión logística simple y bivariado, junto a Txm (temperatura máxima media). Un modelo trivariado integrado por dos variables interactivas y Txm logró la mayor precisión de predicción al clasificar correctamente el 93% de los casos. Las variables ambientales identificadas favorecen la infección de *F. verticillioides*, de esta manera se puede explicar la variabilidad en los niveles de fumonisina a cosecha. Estos resultados podrían ser útiles para el manejo racional de ambos, la enfermedad y la micotoxina.

Palabras claves: micotoxinas, modelos logísticos, lluvia, humedad.

ABSTRACT

Environmental factors that affect the fumonisin content in maize grain

Regression logistic techniques were used to study the environmental variables associated with fumonisin content in maize grain. The dependent variable consisted of 29 values of fumonisins B₁ and B₂ (FB₁ and FB₂) from samples of susceptible hybrid sowed in several sites of the Pampas region from 2006/07 to 2008/09. Meteorological variables were recorded in relation to the silking stage. The Np2 variable (number of periods of two days with simultaneous recording of rainfall and relative humidity $\geq 81\%$ (day 1) and relative humidity $> 70\%$ at the second day) was the most strongly correlated with FB₁ and FB₂ (Kendall coefficient: τ : 0.63 and 0.52 respectively) and was included in simple and bivariate regression logistic models with Txm (mean maximum temperature). A trivariate model integrated for two interactive variables and Txm achieved the highest accuracy of prediction, classifying correctly 93% of cases. The environmental variables identified in this study stimulate *F. verticillioides* infection and can explain the variability in fumonisin levels at harvest. These results could be useful for the rational management of both disease and mycotoxin.

Key words: mycotoxins, logistic regression models, rain, humidity.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades conocidas como “podredumbres de espiga” son causadas por hongos. La especie patógena más importante en la región maicera argentina es *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg [sin. p.p. *F. moniliforme*, teleomorfo *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenw.]. Los síntomas generalmente aparecen en varias regiones de la espiga o en granos aislados, formando un micelio de masa algodonosa con una coloración que puede variar del blanco al rosado intenso. *F. verticillioides*, además de afectar directamente el rendimiento en grano, afecta

la calidad de los mismos contaminándolos con sustancias tóxicas denominadas fumonisinas (FB₁, FB₂, FB₃), entre las cuales la FB₁ es la más abundante y su exposición produce leucoencefalomalacia (LEM) en ganado equino y edema pulmonar en ganado porcino, además de efectos tóxicos en el sistema nervioso central, hígado, páncreas, riñones y pulmones de varias especies de animales. En humanos, la presencia de fumonisinas en maíz se ha relacionado con casos de cáncer de esófago en habitantes de la zona de Transkei, África austral y China (FAO, 2003). Por otro lado, la Unión Europea ha impuesto límites máximos de micotoxinas, entre las que

se encuentran las fumonisinas, tanto para grano de maíz como para sus derivados.

Son varias las vías de entrada del hongo a la espiga de maíz. Una de las más importantes es la infección de los granos a través de los estigmas, no obstante, la transmisión por semilla y tallo también lo pueden ser, sobretodo en aquellos genotipos con escasa transmisión por estigmas (Munkvold et al., 1997a). Según Hesseltine & Bothast (1977), el momento de infección de los granos de maíz depende de la especie fúngica actuante, siendo la principal vía de entrada los estigmas luego de la polinización. Por otro lado, el daño por insectos también ha sido reportado como una importante vía de entrada (Munkvold et al., 1997b) y como factor influyente en el contenido de fumonisina final (Schulthess et al., 2002).

La contaminación con micotoxinas es afectada por factores climáticos como la temperatura y humedad relativa disponible en pre y/o post cosecha (Paterson & Lima, 2010). En un estudio sobre la micoflora natural y contaminación con fumonisinas en maíz en Brazil, Ono et al. (1999), encontraron que la combinación de alta humedad relativa-temperatura era el factor clave para el crecimiento del hongo y la posterior contaminación con micotoxinas en el campo. En ambiente controlado Dilkin et al. (2002) evaluaron la producción de FB₁ y FB₂ por 2 cepas brasileras y una americana de *F. verticillioides* bajo tratamientos de diferentes temperaturas y contenidos de humedad sobre sustrato de maíz y a través de regresión lineal hallaron que la temperatura ideal para la producción de FB₁ y FB₂ fue de 24.5 y 24.3°C respectivamente. Modelando la producción de FB₁ en función de la actividad de agua (a_w), Marin et al. (1999) encontraron que la concentración de FB₁ incrementó con la a_w y fue óptima en un rango de 15 a 30°C.

La influencia del ambiente sobre las micotoxinas ha sido escasamente estudiado en Argentina. De la Campa et al. (2005) modelaron el efecto del ambiente, daño por insecto y genotipos Bt sobre la acumulación de fumonisina en maíz en varias localidades de Argentina y Filipinas. En este trabajo identificaron cuatro períodos alrededor de la salida de estigmas como críticos para la concentración de fumonisina a cosecha. La variabilidad en el total del contenido de fumonisinas de las muestras fue explicado en primer lugar por la ubicación del campo y el clima (47%), la severidad de daño por insecto (17%), el híbrido utilizado (14%) y la presencia o ausencia de eventos Bt (11%).

En Italia, Maiorano et al. (2009) desarrollaron un modelo de simulación dinámico (FUMAGrain) para el riesgo de fumonisinas en maíz. Establecieron tres submodelos integrados por el desarrollo del cultivo de maíz, la infección de *F. verticillioides* y la síntesis de fumonisinas y por último, el daño ocasionado al grano por el "barrenador europeo". Los inputs del modelo son fecha de siembra, datos horarios de temperatura, humedad relativa, velocidad del viento, intensidad de lluvia, información del desarrollo fenológico del híbrido

plantado e información acerca del tratamiento químico del insecto barrenador.

Una de las medidas efectivas para reducir los contenidos de micotoxinas es el uso de híbridos resistentes. Existe una asociación positiva entre síntomas visibles (granos colonizados con micelio de color blanco a rosa intenso o estrias de color blanquecino) y contenido de fumonisinas que puede usarse ventajosamente en la selección. Presello et al. (2007) encontraron una relación lineal entre la contaminación de fumonisina en grano y el rendimiento debido a la severidad de la enfermedad. A pesar de ello, la relación entre la infección de *F. verticillioides*, síntomas visibles y los niveles de fumonisinas en grano no son claras (Desjardins & Plattner 1998). En el presente trabajo a partir de la identificación de variables ambientales que intervienen en la infección natural de *F. verticillioides*, se buscó explicar la variabilidad del contenido de fumonisina final en grano a cosecha, al mismo tiempo se trató de establecer las ventanas temporales dentro del ciclo del maíz donde son procesadas y sobre la base de estas variables se desarrollaran modelos predictivos de la concentración de la micotoxina en grano maduro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

En tres campañas (2006/07 a 2008/09) un híbrido de maíz susceptible a la podredumbre de la espiga fue sembrado en siete sitios de la región pampeana (Manfredi, Marcos Juárez, Paraná, Oliveros, Pergamino, Balcarce y Barrow) en dos fechas de siembra, (1^{ra}: inicio de octubre-fines de octubre; 2^{da}: fines de octubre-inicio de enero). En cada localidad y fecha de siembra se sembraron dos parcelas de cuatro surcos de 5 m cada uno. Cada parcela consistió de 100 plantas a una densidad de 75.000 plantas / ha. Se cosecharon manualmente todas las espigas de cada parcela, con humedad de entre 16 y 18% de acuerdo a lecturas con humidímetros portátiles y se tomaron dos muestras al azar de 50 espigas cada una. Las espigas se dejaron secar naturalmente hasta alcanzar una humedad de equilibrio de aproximadamente 13% de acuerdo a lecturas realizadas con un humidímetro eléctrico digital Burrows Modelo 700, se desgranaron manualmente y se tomó una muestra de 1kg de grano para análisis de fumonisinas y de ocurrencia de especies de *Fusarium*.

Análisis de fumonisinas

Una parte de las muestras de granos de maíz se reservó para el análisis del contenido de fumonisina y otra para el estudio de la composición de especies de *Fusarium* asociadas. La identidad de *Fusarium* se estudió mediante la siembra de las semillas en papel de filtro y congelamiento, con posterior repique a medios agarizados de sacarosa nutriente, hojas de clavel y papa glucosado (Neergaard, 1977; Leslie & Summerell, 2006). La cuantificación del contenido de fumonisina se realizó mediante HPLC (Método Oficial AOAC 2000 995.15).

Desarrollo de modelos

Variable dependiente: probabilidad de ocurrencia de niveles categorizados de FB_1 y FB_2 expresados en $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Categorización: los valores de FB_1 y FB_2 se categorizaron en función de valores umbrales (ligero, moderado y severo), B_1 : ≤ 1680 , >1680 y ≤ 3240 y >3240 ; B_2 : ≤ 500 , >500 y ≤ 990 y >990 . Dichos umbrales correspondieron a los percentiles 50 y 90% respecto a los 29 valores observados (Tabla 1).

Variables meteorológicas regresoras: a partir de información diaria de temperatura máxima (T_x °C) y mínima (T_n °C), precipitación (Pr, mm) y humedad relativa (HR%) registrada por los observatorios meteorológicos de los sitios de ensayo, se construyeron múltiples variables meteorológicas y se analizaron numerosas ventanas temporales en torno a la aparición de estigmas, en las que dichas variables fueron procesadas.

Variables simples: GDTx- se acumulan diariamente las diferencias positivas entre T_x y el umbral $28,5^\circ\text{C}$; GDTn- se acumulan diariamente las diferencias positivas entre el

umbral 20°C y T_n ; DT- número de días con $T_n > 18^\circ\text{C}$ y $T_x < 30^\circ\text{C}$; T_{xn} - GDTx + GDTn; T_{xm} - temperatura máxima media; T_{nm} - temperatura mínima media; Ndll- días con registros de $Pr > 0,2$ mm; Np1- número de días con registros de $Pr > 0,2$ mm y $HR > 81\%$; Np2- número de períodos de dos días con registro de $Pr > 0,2$ mm y $HR \geq 81\%$ en el día 1 y $HR > 70\%$ en el segundo día; Tot- Np1 + Np2; DHR- días con registros de $HR \geq 70\%$.

Interacciones de 2 variables simples:

It1=Ndll*GDTn, It2=Np1* GDTn, It3=Np2*GDTn, It4=Ndll*GDTx, It5=Np1*GDTx, It6=Np2*GDTx, It7=Ndll*DT, It8=Np1*DT, It9=Np2*DT.

Análisis estadístico

- Se verificó el efecto del año, localidad, fecha de espigazón y sus interacciones a través del PROC GLM del SAS.

- Cálculo de coeficientes de correlación de Kendall (τ) (Proc Freq del SAS) entre los niveles de fumonisina B_1 y B_2 y las variables meteorológicas descritas (simples e interacciones). A partir de la maximización de estos

TABLA 1 - Contenido de fumonisina B_1 y B_2 en $\mu\text{g}/\text{kg}$ por localidad para las campañas 2006/07, 2007/08 y 2008/09 (N= 29)

Año	Localidad	Fecha siembra	Fecha espigazón	F B_1	F B_2
2006/2007	Oliveros	23-Oct	28-Dic	1480	465
2006/2007	Manfredi	23-Oct	02-Ene	2005	595
2006/2007	Manfredi	20-Nov	10-Mar	1705	615
2006/2007	Paraná	27-Oct	20-Dic	2775	785
2006/2007	Paraná	17-Nov	21-Mar	18890	5965
2006/2007	Barrow	05-Oct	12-Ene	380	125
2006/2007	Barrow	03-Nov	27-Ene	1100	260
2006/2007	Pergamino	15-Oct	28-Dic	890	217
2006/2007	Pergamino	10-Nov	14-Ene	2340	580
2006/2007	Marcos Juárez	17-Oct	12-Dic	1790	500
2006/2007	Marcos Juárez	26-Dic	08-Ene	3030	920
2006/2007	Balcarce	13-Oct	14-Ene	570	185
2006/2007	Balcarce	04-Ene	02-Mar	2325	790
2007/2008	Paraná	31-Oct	10-Dic	795	240
2007/2008	Paraná	29-Nov	14-Ene	3240	990
2007/2008	Barrow	05-Oct	31-Ene	2000	825
2007/2008	Barrow	30-Oct	13-Feb	275	115
2007/2008	Pergamino	-	26-Ene	4245	1425
2007/2008	Marcos Juárez	27-Sep	20-Dic	400	140
2007/2008	Marcos Juárez	04-Ene	07-Mar	1680	535
2007/2008	Balcarce	24-Sep	20-Ene	100,5	1
2007/2008	Balcarce	01-Nov	06-Feb	60,5	0,5
2008/2009	Manfredi	-	21-Dic	2240	530
2008/2009	Manfredi	-	25-Feb	2470	750
2008/2009	Paraná	07-Oct	09-Dic	1160	300
2008/2009	Paraná	04-Dic	22-Ene	2230	540
2008/2009	Barrow	20-Oct	16-Ene	255	90
2008/2009	Balcarce	27-Oct	23-Ene	330	175
2008/2009	Balcarce	21-Nov	07-Feb	580	175

-: información no disponible.

coeficientes queda establecida la ventana temporal donde son procesadas las variables meteorológicas.

- Regresión logística (De Wolf et al., 2002; Moschini et al., 2006): mediante esta técnica se estimó la probabilidad de ocurrencia de cada categoría de fumonisina B₁ y B₂ de acuerdo a una o varias de las variables regresoras analizadas (simples o como componente interactivo). Regla de decisión: se pronostica la categoría de fumonisina con la máxima probabilidad asociada de ocurrencia. El procedimiento Logistic del SAS fija modelos de regresión paralelos para datos de respuesta ordinaria por medio del método de máxima verosimilitud, basado en la distribución de probabilidad acumulada de los niveles de respuesta. Una función logit (logaritmo natural de (Pr / 1- Pr), siendo Pr la probabilidad acumulada de las categorías epidémicas, establece la unión entre el componente estocástico y las variables regresoras meteorológicas analizadas. Los supuestos requeridos por el análisis de regresión lineal paramétrico no se exigen en la regresión logística. El método de selección de variables Stepwise del Proc Logistic fue usado para obtener el modelo más apropiado, haciendo jugar las 20 variables (simples e interactivas) descritas y fijando distintos niveles de significancia para entrar y permanecer en el modelo (NSE y NSP respectivamente).

- Precisión de predicción: porcentaje de casos correctamente clasificados. Si en cada uno de los casos analizados se compara el contenido de fumonisina observada vs. la predicha con la máxima probabilidad de ocurrencia por la ecuaciones logísticas desarrolladas, se puede calcular el porcentajes de casos correctamente clasificados.

RESULTADOS

La especie de *Fusarium* más frecuentemente aislada de los granos de maíz en las tres campañas y para todas las localidades estudiadas fue *F. verticillioides*. En Barrow, Balcarce y Bordenave también se pudo identificar *F. subglutinans* y *F. proliferatum*. Con muy poca frecuencia

también se identificó el género *Acremonium* (Datos no publicados).

En la Tabla 1 se detallan los contenidos de FB₁ y FB₂ por localidad para las tres campañas analizadas (2006/07, 2007/08 y 2008/09). Como se puede apreciar, los valores de fumonisina en grano fueron más altos en muestras pertenecientes a la primera campaña. Los valores promedios (FB₁ + FB₂) para las tres campañas fueron de 1972,3, 939,2 y 739,0 µg/kg respectivamente; por otro lado, FB₂ representó el 30,5, 33,8 y 27,6% del contenido de FB₁ en las primera, segunda y tercera campaña respectivamente. Tanto año, localidad, fecha de espigazón como sus interacciones tuvieron un efecto significativo sobre el contenido de FB₁ y FB₂ (Tabla 2).

Las más altas correlaciones (coeficiente de Kendall) entre los contenidos de fumonisina en grano y las variables meteorológicas analizadas se encontraron cuando estas últimas fueron procesadas en el lapso que se inicia siete días antes de la fecha de plena aparición de estigmas (R1), según escala de Ritchie & Hanway (1982) y finaliza al acumularse 215 grados-día (T media diaria base 10°C). Este periodo comprende un total de 17 días ± 2. En la Tabla 3 se presentan los coeficientes de correlación de Kendall (τ) entre los contenidos de FB₁ y FB₂ y las variables simples e interactivas analizadas. Las variables Np2 y Tot resultaron las más fuertemente correlacionadas con el contenido de FB₁ y FB₂ con τ cercanos a 60% para FB₁ y a 50% para FB₂. Entre las variables interactivas de mayor respuesta estuvieron It3, It6 e It9 las que comparten como componente a la variable simple de mayor respuesta, Np2. En cuanto a las variables térmicas, todas resultaron con coeficientes de correlación de Kendall bajos. DT, de pendiente positiva, fue la de mayor coeficiente (τ: 0,25), mientras que GDx, GDn, Txn y Txm resultaron con pendiente negativa y con coeficientes muy bajos.

En la Tabla 4 se detallan los modelos logísticos desarrollados para estimar la probabilidad de ocurrencia de cada uno de los niveles epidémicos categorizados como severo (S), moderado (M) o ligero a nulo (L), utilizando

TABLA 2 - Análisis de varianza del efecto de la localidad, año y fecha de espigazón sobre el contenido de fumonisina B₁ y B₂

Fuente	FB ₁			FB ₂		
	gl	F Valor	Pr > F	gl	F Valor	Pr > F
Localidad (LOC)	6	12.29	<.0001	6	12.11	<.0001
Año (AN)	2	11.54	0.0004	2	11.09	0.0005
Fecha de espigazon (FE)	1	18.43	0.0003	1	14.68	0.0009
LOC*AN	8	13.77	<.0001	8	13.22	<.0001
LOC*FE	5	9.05	<.0001	5	10.95	<.0001
LOC*FE*AN	6	14.31	<.0001	6	11.87	<.0001

Nivel de significancia P < 0.05

TABLA 3 - Coeficientes de correlación de Kendall (τ) de variables meteorológicas en relación con los niveles de fumonisina B₁ y B₂ (severo, moderado y ligero a nulo)

Fumonisina B ₁		Fumonisina B ₂	
Variables	t	Variables	t
Simples		Simples	
GDTx	-0,1789	GDx	-0,2103
GDTn	-0,0779	GDn	-0,0973
Txn	-0,1168	Txn	-0,13363
DT	0,2551	Dgp	0,1572
Ndll	0,2073	Ndll	0,1313
Txm	-0,0519	Txm	0,013
Tnm	0,0779	Tnm	0,1233
Dhr	0,5838	Dhr	0,0663
Np1	0,3352	Np1	0,2721
Np2	0,6359	Np2	0,5244
Tot	0,6098	Tot	0,4899
Interactivas		Interactivas	
It1	0,013	It1	-0,0195
It2	0,3796	It2	0,1752
It3	0,4996	It3	0,4238
It4	0,0227	It4	-0,0422
It5	0,432	It5	0,1298
It6	0,5333	It6	0,3991
It7	0,263	It7	0,1686
It8	0,3851	It8	0,1238
It9	0,4239	It9	0,3179

GDTx= se acumulan diariamente las diferencias positivas entre Tx y el umbral 28,5°C; GDTn= se acumulan diariamente las diferencias positivas entre el umbral 20°C y Tn; DT= número de días con Tn>18°C y Tx< 30°C; Txn= GDTx + GDTn; Txm= temperatura máxima media; Tnm= temperatura mínima media; Ndll= días con registros de Pr>0,2 mm; Np1=número de días con registros de Pr>0,2 mm y HR>81 %; Np2= número de períodos de dos días con registro de Pr>0,2 mm y HR>= 81 % en el día 1 y HR>70 % en el segundo día; Tot= Np1 + Np2; DHR= días con registros de HR>=70 %; It1=Ndll*GDTn, It2=Np1*GDTn, It3=Np2*GDTn, It4=Ndll*GDTx, It5=Np1*GDTx, It6=Np2*GDTx, It7=Ndll*DT, It8=Np1*DT, It9=Np2*DT

variables meteorológicas simples e interactivas. Además, se muestra la precisión de predicción (Prec.%), o sea, el porcentaje de casos correctamente clasificados.

El modelo univariado I que incluye a Np2 clasificó correctamente 23 de las 29 observaciones de FB₁. El modelo II, además de Np2 incluye a la variable Txm (temperatura máxima media) y permitió clasificar correctamente 24 casos de los 29 observados (83% de precisión de predicción). El modelo III, de mayor precisión (93%), clasificó correctamente 27 de las 29 observaciones e incluye dos interacciones (It7 e It3) y a Txm. Los modelos para FB₂ (modelo IV, V y VI) estuvieron compuestos por las mismas variables que los de FB₁, pero el porcentaje de precisión fue menor.

En la Figura 1 A y B se comparan los valores de la variable Np2 en los percentiles 25, 50, 75% y máximo, para el total de observaciones (N= 29) de contenido de FB₁ y FB₂ agrupadas en las categorías severa, moderada

TABLA 4 - Modelos logísticos para estimar la probabilidad de ocurrencia de cada categoría epidémica: severa (S), moderada (M) o ligera a nula (L), sobre la base de variables meteorológicas simples e interacciones para fumonisina B₁ y B₂

Fumonisina B ₁		
Modelo	Ecuaciones del modelo	Precisión(%)
I	¹ Ec 1: -6,3572 + 1,3673 Np2	0,7931
	Ec 2: -1,8566 + 1,3673 Np2	
II	Ec 1: -43,3370 + 2,2475 Np2 + 1,2370 Txm	0,8276
	Ec 2: -37,5055 + 2,2475 Np2 + 1,2370 Txm	
III	Ec 1: -180 + 5,6414 Txm + 0,0561 It3 + 0,3154 It7	0,931
	Ec 2: -167,4 + 5,6414 Txm + 0,0561 It3 + 0,3154 It7	
Fumonisina B ₂		
IV	¹ Ec 1: -5,3446 + 1,0318 Np2	0,7241
	Ec 2: -1,4373 + 1,0318 Np2	
V	Ec 1: -35,2151 + 1,6476 Np2 + 1,0149 Txm	0,7586
	Ec 2: -30,5919 + 1,6476 Np2 + 1,0149 Txm	
VI	Ec 1: -117,2 + 3,6885 Txm + 0,0358 It3 + 0,2000 It7	0,862
	Ec 2: -109,3 + 3,6885 Txm + 0,0358 It3 + 0,2000 It7	

¹Ec1= ln (PrS/1-PrS), Ec2= ln (PrMac / 1-PrMac). Resolviendo la expresión $\text{Exp}\{\ln(\text{PrS}/1-\text{PrS})/1+\text{Exp}[\ln(\text{PrS}/1-\text{PrS})]\}$ se obtiene el valor de PrS (probabilidad de observar un nivel de fumonisina severo [S]) y resolviendo $\text{Exp}\{\ln(\text{PrMac}/1-\text{PrMac})/1+\text{Exp}[\ln(\text{PrMac}/1-\text{PrMac})]\}$ se obtiene PrMac (probabilidad acumulada de observar un nivel de fumonisina igual o mayor al moderado [M]). PrM=PrMac-PrS, PrL=1-(PrS+PrM) siendo PrL la probabilidad de observar un nivel de fumonisina ligero a nulo (L). Ln es el logaritmo natural.

y ligera a nula. Se visualizan diferencias marcadas en los valores de Np2 entre las categorías, confirmando el poder discriminante de dicha variable.

DISCUSIÓN

La especie de *Fusarium* más frecuentemente aislada en las siete localidades estudiadas (Manfredi, Marco Juárez, Paraná, Oliveros, Pergamino, Balcarce y Barrow) fue *F. verticillioides*, lo que concuerda con lo hallado en otros estudios realizados en Argentina (Shulze et al., 1996; Saubois et al., 1996) y en otros países (Ono et al., 1999; Munkvold, 2003). El hecho de que los efectos año, localidad, fecha de siembra y sus interacciones resultaran significativas sobre el contenido de FB₁ y FB₂, refleja la variabilidad de las 29 observaciones y su potencial para constituirse en la variable dependiente de modelos predictivos del nivel de fumonisina

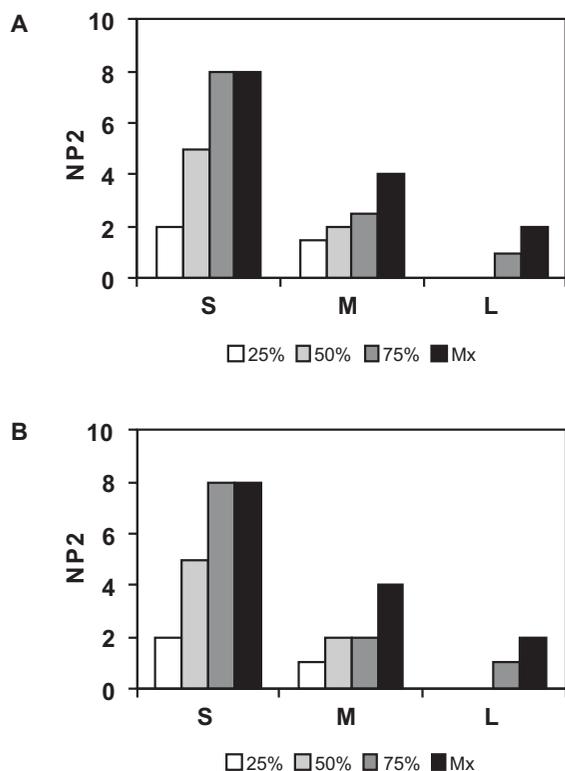


FIGURA 1 - Valores que alcanza la variable Np2 para el grupo de observaciones de contenido de FB₁ (A) y FB₂ (B) categorizadas como severa S (N=2), moderada M (N=12 y 13) y ligera L (N=15 y 14), en los percentiles 25, 50 y 75 % y máximo. S: FB₁>3240 µg/kg, M: FB₁>1680 y <=3240 µg/kg y L: FB₁<=1680 µg/kg; S: FB₂>990 µg/kg, M:FB₂>500 y <=990 µg/kg y L: FB₂<=500 µg/kg.

basados en variables meteorológicas. FB₂ representó el 30,5, 33,8 y 27,6% del contenido de FB₁ en las campañas 2006/07 a 2008/09 respectivamente, lo que acompaña a lo encontrado por Bullerman (1996) citado por De la Campa et al. (2005) donde detallan que el 70 a 80% del total de fumonisina en maíz corresponde a FB₁.

En este trabajo las más altas correlaciones entre los contenidos de fumonisina en grano y las variables meteorológicas se encontraron cuando estas últimas se procesaron en un periodo aproximado de 17 días alrededor de la aparición de estigmas (7 días antes y hasta 10 días después de la salida de los mismos). Similar ventana fue explorada por De la Campa et al. (2005) para explicar la concentración de fumonisina a cosecha, donde analizaron un periodo que abarca 24 días alrededor de la aparición de estigmas, iniciándose 10 días antes y finalizando 14 días después de la misma. Maiorano et al. (2009) por su parte, desarrollaron un modelo dinámico para evaluar la síntesis de fumonisina en maíz con datos provenientes del norte de Italia. Este modelo, además de estimar la infección de los estigmas a través de la simulación de la dispersión del inóculo y la germinación, amplifica la ventana de análisis simulando el crecimiento de *F. verticillioides* y la síntesis

de fumonisina durante la etapa de maduración del grano. Al igual que De la Campa et al. (2005) estos autores toman como factor importante, incluyéndolo en un submodelo, al daño ocasionado por insectos.

Ono et al. (1999), en un estudio realizado en tres zonas (norte, centro-oeste y centro-sur) del estado de Paraná (Brasil), encontraron que la combinación de alta humedad relativa y temperatura eran claves para el crecimiento del hongo y la posterior contaminación con micotoxinas en el campo. Los más altos niveles de fumonisina fueron encontrados en la zona norte y central-oeste del estado. Una más alta temperatura máxima y humedad relativa (durante dos ciclos de cultivo) en la zona central-oeste explicaron la diferencia con respecto a las otras dos zonas. La mayor contaminación de la zona norte con respecto a la central-sur fue explicada por diferentes niveles de lluvia antes de la cosecha. En el presente trabajo, los niveles de fumonisina en grano a cosecha también fue explicado por una combinación de lluvia y humedad relativa (variable Np2). Esta combinación de factores estaría actuando en la infección del hongo y explicarían los diferentes niveles de toxina en grano a cosecha. Según Moschini & Fortugno (1996) la longitud del periodo de mojado de las espigas seguido de una lluvia es dependiente del poder evaporativo del aire. Bajos niveles de humedad relativa del aire lleva a una mayor demanda atmosférica de vapor de agua produciendo períodos de mojado más cortos. De lo expuesto anteriormente, surge la importancia de la variable Np2 (número de períodos de dos días con registro de Pr>0,2 mm y HR>= 81% en el día 1 y HR>70% en el segundo día) hallada en este trabajo y explica el bajo coeficiente de la variable Ndll (días con registros de Pr>0,2 mm). De la Campa et al. (2005) encontraron una relación positiva con la lluvia 4 a 10 días antes y 8 a 14 días después de la espigazón, y negativa 8 a 10 días después del mismo periodo. Como en el presente trabajo, Moschini & Fortugno (1996) y Del Ponte et al. (2005) desarrollaron modelos de predicción de la fusariosis de la espiga de trigo definiendo variables que derivan de la combinación de la lluvia y humedad relativa.

Según Munkvold (2003), periodos secos antes y durante el llenado de granos favorecen a una mayor severidad de enfermedad y a una más alta acumulación de fumonisina. En este trabajo, con el objetivo de verificar lo que ocurre en otros períodos con la variable lluvia, se exploraron otras ventanas (inicio: fecha de plena espigazón + 8, 10, 15, 20 y 25 días), además de la ventana de mayor ajuste (inicio: fecha de plena espigazón - 7 días hasta acumular 215 grados-día). Todos los coeficientes de correlación fueron bajos y casi todos con pendiente negativa, lo que realza la importancia tanto de la ventana como de la variable Np2 hallada. Con respecto a las variables térmicas, en este estudio, no cumplieron un rol importante sobre el contenido de FB₁ y FB₂, quizás, no sean factores limitantes para la acumulación de fumonisinas en Argentina.

La regresión logística ha sido ampliamente utilizada en estudios de relación ambiente- enfermedad

en diversos cultivos. Por ejemplo, De Wolf et al. (2003) utilizaron esta técnica para modelar niveles epidémicos de la fusariosis de la espiga de trigo y Johnson et al. (1996) y Henderson (2007) la utilizaron para estudiar la relación entre el ambiente y epidemias de tizón tardío de la papa. En el caso de micotoxinas, Battilani et al. (2008) en Italia, utilizaron técnicas de regresión logística para predecir la contaminación de fumonisina en maíz, integrando información sobre cultivo precedente, tipo de híbrido, fertilización nitrogenada, fechas de siembra y cosecha y contenido de humedad del grano. En el presente trabajo se desarrollaron modelos para predecir niveles de FB₁ y FB₂ a cosecha, también utilizando técnicas de regresión logística. Como se puede ver en la tabla 4, Np2, que simula la duración del mojado de la espiga, se encuentra formando parte de todos los modelos, junto a Txm y como componente de la interacción It3.

Los modelos presentados en esta investigación pudieron establecer exitosamente la ventana temporal (alrededor de la salida de estigmas) donde las variables ambientales actuarían en los procesos de infección de *F. verticillioides* y en consecuencia en la posterior contaminación con fumonisinas. La combinación de lluvia con humedad relativa (variable Np2) sería la principal responsable de los diferentes niveles de contaminación con fumonisinas en grano de maíz a cosecha. Estos modelos son preliminares y fueron desarrollados a partir de datos de contaminación de granos de un híbrido susceptible, por tal motivo son necesarios nuevos ensayos con diferentes híbridos de maíz (con y sin evento Bt) para estudiar sus respuestas y poder incluir sus efectos en futuros modelos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC (2000) AOAC 995.15 method In: Horwitz W (Ed.) Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th ed., Chapter 49. AOAC Int., Gaithersburg MD. pp. 44-46.
- Battilani P, Pietri A, Barbano C, Scandolara A, Bertuzzi T, Marocco A (2008) Logistic regression modeling of cropping systems to predict fumonisin contamination in maize. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56:10433-10438.
- Chulze S, Ramirez ML, Farnochi M, Pascale M., Visconti A, March G (1996) *Fusarium* and fumonisins occurrence in Argentinian corn at different ear maturity stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44:2797-2801.
- De la Campa R, Hooker DC, Miller JD, Schaafsma AW, Hammond BG (2005) Modeling effects of environment, insect damage, and Bt genotypes on fumonisin accumulation in maize in Argentina and the Philippines. *Mycopathologia* 159:539-552.
- De Wolf ED, Madden LV, Lipps PE (2003) Risk assessment models for *Fusarium* head blight epidemics based on within-season weather data. *Phytopathology* 93:428-435.
- Del Ponte EM, Fernandez JMC, Pavan W (2005) A risk infection simulation model for *Fusarium* head blight of wheat. *Fitopatologia Brasileira* 30:634-642.
- Desjardins AE, Plattner RD (1998) Distribution of fumonisins in maize ears infected with strains of *Fusarium moniliforme* that differ in fumonisins production. *Plant Disease* 82:953-958.
- Dilkin P, Mallmann CA, De Almeida CAA, Stefanon EB, Fontana FZ, Milbradt EL (2002) Production of fumonisins by strains of *Fusarium moniliforme* according to temperature, moisture and growth period. *Brazilian Journal of Microbiology* 33:111-118.
- FAO (2003) Manual Sobre la Aplicación del Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC) en la Prevención y Control de las Micotoxinas. Depósitos de documentos.
- Henderson D, Williams CJ, Miller JS (2007) Forecasting late blight in potato crops of southern Idaho using logistic regression analysis. *Plant Disease* 91:951-956.
- Hesseltine CW, Bothast RJ (1977) Mold development in ears of corn from tasseling to harvest. *Mycologia* 69:328-340.
- Johnson DA, Alldredge JR, Vakoh DL (1996) Potato late blight forecasting models for the semiarid environment of south-central Washington. *Phytopathology* 86:480-484.
- Leslie JF, Summerell BA (2006) The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Publishing.
- 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 Protection* 28:243-256.
- Marin S, Magan N, Serra J, Ramos AJ, Canela R, Sanchis V (1999) Fumonisin B1 production and growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* on maize, wheat and barley grain. *Journal of Food Science* 64:921-924.
- Moschini R, Fortugno C (1996) Predicting wheat head blight incidence using models based on meteorological factors in Pergamino, Argentina. *European Journal of Plant Pathology* 102:211-218.
- Moschini R, Sisterna M, Carmona M (2006) Modelling of wheat black point incidence based on meteorological variables in the southern Argentinean Pampas region. *Australian Journal of Agricultural Research* 57:1151-1156.
- Munkvold GP (2003) Epidemiology of *Fusarium* diseases and their mycotoxins in maize ears. *European Journal of Plant Pathology* 109:705-713.
- Munkvold GP, McGee DC, Carlton WM (1997a) Importance of different pathways for maize kernel infection by *Fusarium moniliforme*. *Phytopathology* 87:209-217.
- Munkvold GP, Hellmich RL, Showers WB (1997b) Reduced *Fusarium* ear rot and symptomless infection in kernels of maize genetically engineered for European corn borer resistance. *Phytopathology* 87:1071-1077.
- Neergard P (1977) Seed Pathology. New York NY. John Wiley and Sons.
- Ono EYS, Sugiura Y, Homechin M, Kamogae M, Vizzoni E, Ueno Y, Hirooka E (1999) Effect of climatic conditions on natural mycoflora and fumonisins in freshly harvested corn of the State of Paraná, Brazil. *Mycopathologia* 147:139-148.
- Paterson RRM, Lima N (2010) How will climate change affect mycotoxins in food? *Food Research International* doi:10.1016/j.foodres.2009.07.010

Presello DA, Iglesias J, Botta G, Eyherabide GH (2007) Severity of Fusarium ear rot and concentration of fumonisin in grain of Argentinian maize hybrids. *Crop Protection* 26:852-855.

Ritchie SW, Hanway JJ (1982) How a corn plant develops. Iowa State University of Science and Technology. Special Report 48. Cooperative Extension Service Ames, Iowa.

Saubois A, Nepote MC, Piontelli E (1996) Regional distribution of Fusarium strains in corn from the Province of Santa Fe, Argentina. *Boletín Micológico* 11:75-80.

Schulthess F, Cardwell KF, Gounou S (2002) The effect of endophytic *Fusarium verticillioides* on infestation of two maize varieties by lepidopterous stemborers and coleopteran grain feeders. *Phytopathology* 92:120-128.

TPP 101 - Recebido 6 Abril 2010 - Aceptado 12 Noviembre 2010
Editor de Seccion: Luis Eduardo Aranha Camargo