

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**ALTERNATIVAS DE CONTROL QUÍMICO Y AJUSTE DE  
METODOLOGÍA DE CUANTIFICACIÓN DE LOS RESIDUOS DE  
FUNGICIDAS UTILIZADOS PARA EL CONTROL DE FUSARIOSIS  
DE LA ESPIGA EN GRANO DE TRIGO**

**por**

**Carolina FRANCIA BENTANCUR  
Lucas MARTELLA GUERRA  
Matías PASSARINO CENTANARO**

**TESIS presentada como uno de  
los requisitos para obtener el  
título de Ingeniero Agrónomo.**

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2017**

Tesis aprobada por:

Director: -----

Ing. Agr. Cintia Palladino

-----

Dr. Carlos Pérez

-----

Dr. Lucía Pareja

Fecha: 24 de agosto de 2017

Autores: -----

Carolina Francia Bentancur

-----

Lucas Martella Guerra

-----

Matías Nicolás Passarino Centanaro

## AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a nuestras respectivas familias por el apoyo constante en el transcurso de nuestra formación.

A nuestra tutora Cintia Palladino por su preocupación para que este trabajo se haya llevado a cabo y por su gran positivismo en todas las etapas; a Lucía Pareja por responder a todas nuestras dudas y tenernos paciencia al explicarnos todo lo referido a su temática.

A nuestro tutor Carlos Pérez por todo el tiempo que nos brindó tanto en el campo como en el laboratorio, por responder a nuestras dudas y por su buena disponibilidad con nosotros. A Paula Fernández por ayudarnos a trabajar en el laboratorio, por hacer etapas del proceso junto a nosotros, por tener la precaución de que no cometamos errores y la excelente disponibilidad que nos brindó y a todos los compañeros del laboratorio que de una manera u otra hicieron el trabajo más ameno. También a Silvana Abbate, Horacio Silva, Nazzaret Ramírez, Bernardo Elvers, Gonzalo Frascheri y Diego Ferreira por los aportes brindados en éste trabajo.

Al PDU por el financiamiento. Abordaje holístico a una temática tan innovadora como preocupante: impacto de los agroquímicos sobre los productos agroalimentarios y el ambiente.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VIII
1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u> .....	2
2.1 IMPORTANCIA DEL TRIGO EN URUGUAY.....	2
2.2 IMPORTANCIA DE LAS ENFERMEDADES DE TRIGO.....	3
2.3 IMPORTANCIA DE LA FUSARIOSIS DE LA ESPIGA.....	4
2.4 CICLO DE LA FUSARIOSIS DE LA ESPIGA.....	7
2.5 CONTROL DE FUSARIUM.....	10
2.5.1 <u>Manejo de la enfermedad: previo a la siembra</u> <u>del cultivo</u> .....	10
2.5.2 <u>Manejo de la enfermedad: luego de la siembra</u> .....	12
2.6 FUNGICIDAS UTILIZADOS EN EL CONTROL QUÍMICO.....	15
2.6.1 <u>Importación de fungicidas</u> .....	16
2.6.2 <u>Fungicidas utilizados para el control de FE</u> .....	16
2.7 RESIDUO DE FUNGICIDAS EN GRANO DE TRIGO.....	17
2.8 MÉTODOS DE DETECCIÓN DE RESIDUO DE FUNGICIDA EN GRANO DE TRIGO.....	19
2.8.1 <u>Metodologías multiresiduo</u> .....	19

2.8.1.1 Métodos instrumentales de análisis.....	22
2.9 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.....	23
2.10 ANTECEDENTES DE RESIDUOS DE FUNGICIDAS EN GRANO.....	25
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> .....	28
3.1 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	28
3.2 CARACTERIZACIÓN DE LOS CULTIVARES UTILIZADOS.....	32
3.3 MANEJO.....	33
3.4 FUNGICIDAS UTILIZADOS.....	33
3.5 DETERMINACIONES A CAMPO.....	39
3.5.1 <u>Espigas por parcela</u> .....	39
3.5.2 <u>Lectura de <i>Fusarium</i></u> .....	39
3.6 COSECHA.....	39
3.6.1 <u>Procesamiento post-cosecha</u> .....	39
3.7 DETERMINACIONES EN EL LABORATORIO.....	40
3.7.1 <u>Nivel de infección de <i>Fusarium</i> en grano</u> .....	41
3.7.2 <u>Técnicas instrumentales de análisis para la detección             de residuos de fungicidas en grano de trigo</u> .....	41
3.7.2.1 Ajuste de metodologías para la determinación de los fungicidas de interés en grano de trigo.....	45
3.7.3 <u>Métodos evaluados</u> .....	46
3.7.3.1 Validación de métodos analíticos.....	49
3.7.3.2 Obtención de resultados.....	50
4. <u>RESULTADOS</u> .....	51
4.1 CARACTERIZACIÓN CLIMÁTICA DE LOS AÑOS 2015-2016.....	51
4.2 EXPERIMENTO 2015.....	55

4.2.1 <u>Incidencia</u> .....	55
4.2.2 <u>Severidad</u> .....	56
4.2.3 <u>Índice de la enfermedad</u> .....	57
4.2.3.1 Nivel de infección de <i>Fusarium</i> en grano.....	59
4.2.4 <u>Rendimiento</u> .....	60
4.2.5 <u>Peso del grano</u> .....	61
4.2.6 <u>Análisis comparativo del grupo químico del fungicida y el momento de aplicación</u> .....	62
4.3 EXPERIMENTO 2016.....	64
4.3.1 <u>Incidencia</u> .....	64
4.3.2 <u>Severidad</u> .....	65
4.3.3 <u>Índice de enfermedad</u> .....	66
4.3.4 <u>Rendimiento</u> .....	66
4.3.5 <u>Peso del grano</u> .....	67
4.3.6 <u>Análisis comparativo del grupo químico de fungicida y el momento de aplicación</u> .....	68
4.3.7 <u>Relación entre nivel de enfermedad, rendimiento y calidad de grano</u> .....	70
4.4 AJUSTE DE METODOLOGÍA PARA DETERMINACIÓN DE LOS FUNGICIDAS DE INTERÉS.....	73
4.4.1 <u>Evaluación de la veracidad y repetitividad</u> .....	73
4.4.2 <u>Evaluación de la linealidad</u> .....	76
4.4.3 <u>Evaluación del efecto matriz</u> .....	78
4.4.4 <u>LOQ y LOD</u> .....	81
4.4.5 <u>Reproducibilidad</u> .....	82
4.4.6 <u>Cromatogramas</u> .....	84
5. <u>DISCUSIÓN</u> .....	90
5.1 AJUSTE Y VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS.....	94

6. <u>CONCLUSIONES</u> .....	96
7. <u>RESUMEN</u> .....	97
8. <u>SUMMARY</u> .....	99
9. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....	100
10. <u>ANEXOS</u> .....	113

## LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Efectividad de las medidas para el control de <i>Fusarium</i>	15
2. Límites máximos de residuos establecidos por el Codex Alimentarius y la Unión Europea.....	18
3. Momento, principio activo y variedad según tratamiento evaluado en el año 2015.....	29
4. Momento, principio activo y variedad según tratamiento evaluado en el año 2016.....	31
5. Comportamiento sanitario de Fuste y Baguette 9.....	33
6. Manejo del ensayo en relación al producto químico empleado y sus respectivas dosis, previo a la aplicación de los fungicidas evaluados .....	33
7. Características de carbendazim.....	34
8. Características de epoxiconazol.....	35
9. Características de metconazol.....	36
10. Características de tebuconazol.....	37

11. Porcentaje promedio de severidad según tratamiento para ambas variedades.....	57
12. Análisis por contrastes ortogonales del efecto del fungicida, del grupo químico y del momento de aplicación, para el cultivar Baguette 9 en 2015.....	63
13. Análisis por contrastes ortogonales del efecto del fungicida, del grupo químico y del momento de aplicación, para el cultivar Fuste en 2015. ....	64
14. Resultado de los ANOVA para las variables incidencia, severidad, índice de enfermedad, rendimiento y peso de mil grano del año 2016.....	67
15. Análisis por contrastes ortogonales del efecto del fungicida, del grupo químico y del momento de aplicación, para el cultivar Baguette 9 en 2016.....	69
16. Análisis por contrastes ortogonales del efecto del fungicida, del grupo químico y del momento de aplicación, para el cultivar Fuste en 2016.....	70
17. Porcentaje de recuperación y porcentaje de desviación estándar relativa obtenidos a una concentración de 100 µg/kg para los 6 métodos evaluados.....	74
18. Evaluación de la veracidad y repetitividad a través de 5 repeticiones para cada compuesto, para las concentraciones 20 µg/kg y 100 µg/kg para el método 3 y 10µg/kg, 20µg/kg, 100 µg/kg y 250 µg/kg para el método 5.....	75
19. Efecto matriz para todos los fungicidas mediante HPLC-QqQ-MS a través de las curvas de calibración en matriz y en solvente .....	81

20. Valores de LOQ y LOD para el método 3 y 5	82
21. Reproducibilidad del método 5 a las concentraciones 20 µg/kg, 100 µg/kg y a 500 µg/kg para cada compuesto	83
22. Tiempo e intensidad al que el equipo detecta el compuesto en muestra contaminada a 5 µg/kg.....	85

Figura No.

1. Evolución del área de siembra y rendimiento promedio nacional del cultivo de trigo en Uruguay en los últimos 15 años.....	3
2. Ciclo de la fusariosis de la espiga	8
3. Cantidad de fungicidas importados por Uruguay en el período 1996-2015.....	16
4. Etapas de la metodología analítica	19
5. Procedimiento utilizado para la cuantificación de la infección de <i>Fusarium</i> en grano cosechado.....	41
6. Esquema generalizado de los pasos del método QuEChERS	43
7. Equipo utilizado HPLC-QqQ-MS	45
8. Temperatura promedio y precipitación mensual acumulada para cada año de experimentación, y para	

el promedio histórico (período 2002-2014).....	51
9. Precipitación diaria y temperatura promedio diaria ocurridas durante el período transcurrido entre cinco días antes de Z61 del cv. Fuste, y la cosecha de ambas variedades en el año 2015.....	52
10. Precipitación diaria y temperatura promedio diaria ocurridas durante el período transcurrido entre cinco días antes de Z61 y la cosecha de ambas variedades en el año 2016.....	52
11. Precipitación diaria y temperatura promedio diaria ocurridas en el año 2002, en el período transcurrido entre cinco días antes de Z61 y la cosecha de ambas variedades para el año 2016.....	53
12. Pronóstico de DON para los años 2015 y 2016 emitidos por DONCast.....	54
13. Porcentaje de incidencia según tratamiento para la variedad Fuste.....	55
14. Porcentaje de incidencia según tratamiento para la variedad Baguette 9.....	56
15. Índice de enfermedad según tratamiento para la variedad Fuste.....	58
16. Índice de enfermedad según tratamiento para la variedad Baguette 9.....	58
17. Porcentaje de incidencia de <i>Fusarium</i> en muestras	

tomadas de las parcelas 2015 de variedad Fuste...	59
18. Porcentaje de incidencia de <i>Fusarium</i> en muestras tomadas de las parcelas 2015 de variedad Baguette 9	59
19. Rendimiento en grano según tratamiento para la variedad Fuste.....	60
20. Rendimiento en grano según tratamiento para la variedad Baguette 9.....	61
21. Peso de mil granos según tratamiento para la variedad Fuste.....	61
22. Peso de mil granos según tratamiento para la variedad Baguette 9.....	62
23. Porcentaje de incidencia según tratamiento para ambas variedades.....	65
24. Porcentaje de severidad según tratamiento para ambas variedades.....	65
25. Índice de enfermedad según tratamiento para ambas variedades.....	66
26. Rendimiento en grano según tratamiento para ambas variedades.....	67
27. Correlación entre índice de enfermedad y PMG.....	71
28. Correlación entre índice de enfermedad y	

rendimiento corregido por humedad.....	72
29. Evaluación de la linealidad de la curva de calibración para cada fungicida para método 3.....	77
30. Evaluación de la linealidad de la curva de calibración para cada fungicida para método 5.....	78
31. Linealidad evaluada en matriz para epoxiconazol, metconazol y tebuconazol según método 3.....	79
32. Linealidad evaluada en matriz para epoxiconazol, metconazol y tebuconazol según método 5.....	80
33. Cromatograma de carbendazim de extracto de trigo fortificado a 250 µg/kg.....	86
34. Cromatograma de epoxiconazol de extracto de trigo fortificado a 250 µg/kg.....	87
35. Cromatograma de tebuconazol de extracto de trigo fortificado a 250 µg/kg.....	88
36. Cromatograma de metconazol de extracto de trigo fortificado a 250 µg/kg.....	89

## 1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la agricultura en Uruguay ha experimentado grandes cambios como por ejemplo, la menor diversificación de la secuencia de los cultivos debida a la realización de agricultura continua sin rotación con pasturas, lo que generó una menor diversidad de especies, como resultado de que pocos cultivos fueran los más explotados (Pérez et al., 2011).

El trigo aquí jugó un rol importante al seguir la fuerte expansión de la soja. Esta expansión del cultivo provocó que una importante área de trigo se realice sobre rastrojo del mismo cultivo, generando mayor incidencia de enfermedades, que a su vez se agudiza con el sistema de agricultura continua y la adopción de la siembra directa, lo que provoca mayor cantidad de rastrojo en superficie favoreciendo a microorganismos que sobreviven en el mismo, como lo es por ejemplo *Fusarium* (Pérez et al., 2009).

Esta enfermedad se considera una de las más importantes en el cultivo de trigo por las pérdidas que genera tanto en rendimiento como en calidad. El manejo de la misma es preventivo; es decir no existen controles curativos eficientes por lo tanto, es difícil determinar el momento justo de aplicación del fungicida (Díaz de Ackermann y Pereyra, 2011).

Estas aplicaciones, que muchas veces son innecesarias, impactan de forma negativa sobre el ambiente, pudiendo generar residuos de fungicidas en el grano de trigo luego de una aplicación; esto puede afectar la salud de los consumidores además de la calidad del grano, generando consecuencias sobre el valor agregado y las exportaciones, ya que los mercados internacionales poseen regulaciones cada vez más estrictas en cuanto a las concentraciones máximas de fungicidas en alimentos (Gravilescu, 2005).

Dada esta creciente problemática, este trabajo tiene por objetivo evaluar diferentes manejos de control químico para FE en trigo, en dos zafras en la localidad de Paysandú y validar un método de determinación de residuos de los fungicidas utilizados para su control en grano.

La elección y validación del método permitirá ajustar el método más adecuado para la recuperación de los fungicidas, evitando sobre o subestimaciones. Este estudio es la base para poder sumar a las eficiencias de control de los fungicidas y su benevolencia con el ambiente, al permitir posteriores evaluaciones de los residuos en grano de los distintos manejos en distintos años.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 IMPORTANCIA DEL TRIGO EN URUGUAY

El trigo es el principal cereal utilizado como alimento a nivel mundial (Paulsen y Shroyer, 2008). En Uruguay es el principal cultivo de invierno, que pasó a tener mayor importancia a partir del repunte agrícola de la última década en el país, siguiendo la expansión de la soja luego del año 2000, llegando el área triguera a representar del 50-60 % de la superficie cerealera (Uruguay XXI, 2015). En la zafra 2011/12 el área sembrada tuvo un máximo de 593.000 ha generado una producción de aproximadamente 2 millones de toneladas, producción 75% superior a la zafra del año anterior (MGAP. DIEA, 2013). Luego de este año la superficie ha ido disminuyendo levemente debido a precios más desfavorables llegando en 2016/17 a un área sembrada estimada en 222 mil ha (MGAP. DIEA, 2016).

Su producción se concentra principalmente en los departamentos del litoral pero se extiende por todo el país con menos superficie cultivada. Soriano cultiva la cuarta parte de la superficie triguera y Colonia una quinta parte. Estos dos departamentos con los de Río Negro y Paysandú concentran el 75% del área. Superficies menores en San José y Flores (Montevideo COMM, s.f.).

Como otros cultivos, la cosecha anual está sujeta a grandes fluctuaciones determinadas por las irregularidades climáticas y por la variación de las cotizaciones del mercado, así como su área sembrada depende de la relación de precios entre costos y ganancias y la relación del precio con otros cultivos que, en conjunto constituyen las rotaciones (Montevideo COMM, s.f.).

Cuando se analizan estos parámetros a lo largo de los años, se observa que el área sembrada de trigo cayó fuertemente a partir del 2011/12 alcanzando en la zafra 2014/15 menos de 400.000 ha, superficie 36% menor a lo sembrado en la zafra anterior. Además para esa misma zafra, los problemas climáticos afectaron la calidad y el rendimiento no superando las 1,2 toneladas (MGAP. DIEA, 2016). Para la zafra 2015/16 el área volvió a descender, esta vez un 20% alcanzando las 330.000 ha (Figura No. 1). El rendimiento en la zafra 2015/16 marcó un nuevo récord, el mismo fue de 3610 kg/ha, es decir un 35% superior a la campaña anterior (MGAP. DIEA, 2015a).

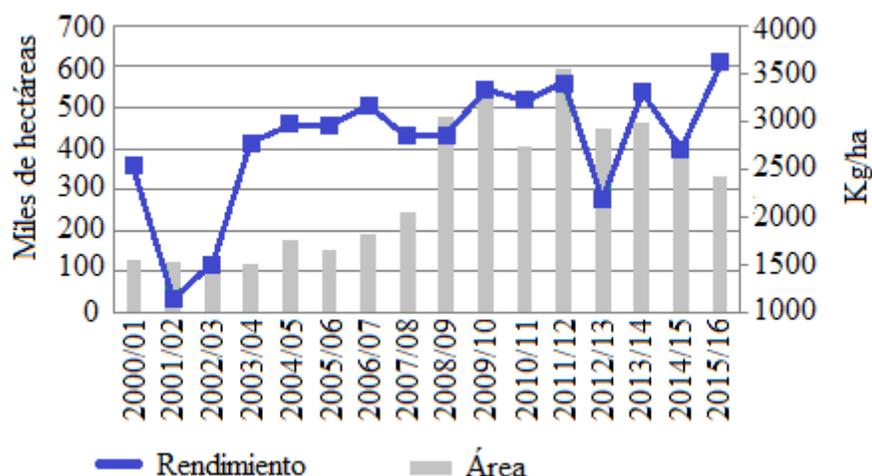


Figura No. 1. Evolución del área de siembra y rendimiento promedio nacional del cultivo de trigo en Uruguay en los últimos 15 años.

Fuente: adaptado de MGAP. DIEA (2016).

El trigo es el tercer grano en cuanto al valor exportado en los últimos años. Hasta el 2012 las exportaciones aumentaron significativamente, pero en el 2013 bajaron los volúmenes de exportación por una caída en el área sembrada como ya se mencionó anteriormente. En el 2014 aunque el volumen creció 20% respecto al año anterior, debido a una baja de 15% en el precio, el valor de las exportaciones creció solamente 2% respecto a 2013. Este cereal estuvo generalmente asociado a satisfacer el mercado interno, industria molinera que elabora harina y proporciona afrechillo, como subproducto (Uruguay XXI, 2015).

## 2.2 IMPORTANCIA DE LAS ENFERMEDADES DE TRIGO

Debido a que hoy día se explota un menú limitado de especies vegetales, hay una limitante al momento de diseñar rotaciones de cultivos diversificadas. Siembras repetidas de las mismas especies vegetales generan abundante disponibilidad de sustrato para patógenos. Además, la práctica de agricultura continua sin rotación con pasturas y la adopción de la siembra directa trae aparejado la mayor incidencia de enfermedades (Pérez et al., 2011).

Por un lado hay una alta proporción de área sembrada con cultivares de alta susceptibilidad a microorganismos biótrofos como las royas, lo que causa una alta probabilidad de generación de inóculo en dichos cultivares, y por tanto mayor presión hacia el resto de las variedades (Pérez et al., 2011).

Por otro lado, la reducida diversificación genera que una importante área de trigo se realice sobre rastrojo del mismo cultivo, sumado a la siembra directa y la agricultura continua, se favorecen todas aquellas enfermedades que sean beneficiadas por el rastrojo en superficie como por ejemplo las causadas por hongos necrótrofos que pueden sobrevivir en el rastrojo; un ejemplo claro en trigo son el grupo de las enfermedades de las manchas foliares causadas por patógenos como *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera tritici-repentis*, *Drechslera teres* y *Zymoseptoria tritici* y otras enfermedades de la espiga como el golpe blanco causado por *Fusarium* sp. (Pérez et al., 2009).

Esta última, ha tomado gran importancia por las pérdidas que genera en los cultivos, y se ha observado un aumento en su frecuencia de aparición por ser beneficiada por la agricultura actual. Su incidencia es de gran importancia ya que afecta varios cultivos en gran parte del mundo y a esto se le suma que es una enfermedad de difícil control.

### 2.3 IMPORTANCIA DE LA FUSARIOSIS DE LA ESPIGA

Existen reportes regionales de pérdidas de rendimiento de hasta un 50% en cultivares sembrados sobre rastrojo de maíz (Ramírez et al., 2004), acorde a Dill-Macky (1996) en otras regiones del mundo como en los Estados Unidos ha causado pérdidas de 33% aproximadamente. Esta enfermedad está reportada en América del Norte, Asia, Europa y América del Sur, por lo que se la ha considerado una amenaza al suministro mundial de alimentos (Goswami y Kistler, 2004). No solo afecta al trigo sino a otros granos como ser cebada, centeno, avena y maíz (Pereyra y Dill-Macky, 2010).

La preocupación por esta enfermedad va en aumento dado que ha crecido su frecuencia de ocurrencia. Estudios en trigo para una serie de 63 años (1915-1977) indicaron la ocurrencia de 1 año en 16; estudios posteriores para una serie histórica de 79 años (1914-1993) mostraron una ocurrencia de 1 año en 11 y en años más recientes (1990/2001), se observa que la enfermedad ha sido importante en 5 años tanto en trigo como cebada (Díaz de Ackermann et al., 2002). Estos datos coinciden con Díaz de Ackermann y Pereyra (2011) quienes afirman que en los últimos trece años, la FE fue

importante en cinco años y muy importante en tres años. Por lo tanto es una enfermedad de frecuencia creciente.

Esto confirma el hecho de que esta enfermedad haya sido favorecida por los cambios en la agricultura porque si bien las condiciones climáticas son decisivas en el desarrollo de epidemias de FE hay otros factores que contribuyen a una mayor incidencia de la enfermedad. La presencia de gramíneas en las pasturas y/o como malezas, y los grandes volúmenes de rastrojos de cultivos susceptibles que permanecen sobre la superficie del suelo generan una mayor carga de inóculo en nuestros sistemas de producción. En especial los rastrojos de maíz, trigo, cebada, sorgo y restos secos de gramíneas como *Cynodon dactylon* o *Digitaria sanguinalis* (Díaz de Ackermann y Pereyra, 2011).

A nivel nacional ha sido considerada una enfermedad esporádica hasta 1976. Hoy día las reducciones en rendimiento cuantificadas en epidemias severas y cultivares muy susceptibles en nuestro país llegaron hasta 30% y en el peor año a una pérdida de un 50% en 1977. Estas pérdidas en el rendimiento en grano resultan principalmente de la esterilidad de las espiguillas (Díaz de Ackermann y Kohli, 1997).

En Uruguay han ocurrido años donde esta enfermedad alcanzó niveles críticos, por ejemplo, en la zona litoral norte del Uruguay, en la zafra 2002 la gran mayoría de los cultivos, independientemente del cultivar, mostraron altos niveles de infección (Pérez, 2004) y en la zafra de invierno del año 2003 la FE se presentó generalizada gracias a las condiciones climáticas favorables y a la escasa resistencia genética presente en los cultivares utilizados (Pérez, 2004).

La FE es una enfermedad que normalmente no causa mermas importantes en el rendimiento del cultivo, pero sí afecta considerablemente la calidad del producto a obtener, principalmente debido a la generación de micotoxinas que pasan a los subproductos de la harina y de la malta, para el caso de trigo y cebada, respectivamente (Goswami y Kistler, 2004).

Esto coincide con Gonnet y Bentancur (2004) que explican que además de ser dañada la calidad física del grano (menor tamaño del grano y germinación reducida del mismo), durante la molienda es más difícil separar el endospermo del resto del grano y aseguran que los hongos del género *Fusarium* producen exoenzimas, fundamentalmente amilasas y proteasas, capaces de afectar la calidad industrial ya que son capaces de destruir los gránulos de almidón, las paredes celulares y las proteínas del endospermo. Ambos tipos de enzimas actúan durante la panificación. Las primeras, contribuyen a una

mayor producción de azúcares simples, que causan una serie de problemas, entre los que se destacan que la masa sea más pegajosa y el pan sea más oscuro. Las segundas afectan la red del gluten, debilitándose, produciendo un pan de menor volumen e incapaz de mantener su forma (Gonnet y Bentancur, 2004). Todo ello redundaría en una menor capacidad de molienda para la elaboración de panificados y pastas en trigo (Díaz de Ackermann et al., 2002). Por consiguiente, en años en que el clima es favorable para la FE, la calidad del trigo se verá seriamente afectada de muchas formas (Díaz de Ackermann y Kohli, 1997).

Además, el porcentaje de espigas infectadas no está claramente asociado con los rendimientos pudiendo alcanzar proporciones altas y no afectar en la misma medida los rendimientos (Díaz de Ackermann, et al., 2002). Esto se debe a que si la infección ocurre luego del llenado del grano, el desarrollo del mismo no es afectado, pero el hongo está presente y los niveles de toxinas pueden llegar a ser significativos (Pereyra y Acosta, 2014).

El microorganismo que produce la FE también puede afectar la inocuidad del producto final como consecuencia de la producción de micotoxinas (Pereyra, 2013). Las mismas son compuestos tóxicos derivados del metabolismo secundario de los hongos (Pereyra y Acosta, 2014), cuya ingestión, inhalación o absorción cutánea reduce la actividad, hace enfermar o causa la muerte de animales y personas (Pitt, 1996).

Son varias las micotoxinas que pueden producir distintas especies del género *Fusarium*, pero las más destacadas son zearalenona (ZEA) y deoxinivalenol (DON) (Pereyra, 2013). La micotoxina ZEA es perteneciente a los metabolitos secundarios derivados de los poliketidos, con efectos estrogénicos y anabólicos. La información relacionada al efecto de esta toxina en humanos es muy escasa y la mayoría es extrapolada de estudios realizados en animales (Pereyra y Acosta, 2014).

La micotoxina DON pertenece al grupo de los tricotecenos, si bien DON no es de los tricotecenos más tóxicos, tampoco es inocuo ya que inhibe la síntesis de proteínas. Se debe tener en cuenta que DON no se distribuye homogéneamente en el grano, su concentración es mayor en la "cáscara" por lo que alimentos con salvado constituyen un mayor riesgo de contaminación (Díaz de Ackermann et al. 2002, Pereyra y Acosta 2014). La ingesta de DON puede causar efectos como rechazo al alimento y vómitos (Pereyra y Acosta, 2014), además de los anteriores efectos puede causar también diarrea, irritación en piel, hemorragias e inmunosupresión (MGAP. DIEA, 2012).

La manipulación de granos altamente contaminados con *Fusarium* puede

provocar alergias y problemas respiratorios (Pereyra y Acosta, 2014). Por resolución ministerial del MGAP, estableció por decreto referente a DON en alimentos un límite máximo de 1 mg/kg (1 ppm) de la toxina en harina de trigo, subproductos y productos elaborados en base a trigo. En el mismo decreto se estableció un límite máximo de DON de 10 mg/kg (10 ppm) para las materias primas destinadas a la elaboración de alimentos para animales (granos y sus subproductos).

La importancia de la enfermedad también radica en que es de muy difícil control en trigo y cebada. No se dispone de una medida de manejo de gran impacto como la rotación de cultivos en el manejo de manchas o la resistencia genética en el caso de royas (Goswami y Kistler, 2004), este tema será explicado con detalle más adelante.

Por todo lo expuesto anteriormente es que en la actualidad esta enfermedad es considerada la principal enfermedad de la producción de trigo de Uruguay y del mundo (Goswami y Kistler, 2004); a su vez dentro de las enfermedades que afectan el cultivo de trigo, la FE es una de las que más pérdidas económicas ocasiona (Ward et al., 2008).

## 2.4 CICLO DE LA FUSARIOSIS DE LA ESPIGA

Esta enfermedad puede ser causada por varias especies de hongos pertenecientes básicamente a dos géneros: *Microdochium* y *Fusarium* (Bottalico, 1998). Dentro del género *Microdochium*, sólo *Microdochium nivale*, con dos sub-especies *M. nivale nivale* y *M. nivale majus*, es capaz de causar FE. Del género *Fusarium* cinco especies han sido reportadas como las principales causales de FE: *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. poae*, y *F. triticum* (Liddell, 2003). En general, *F. culmorum*, *F. poae* y *M. nivale* son más frecuentes en cultivos de trigo y cebada en regiones más frías, mientras que *F. graminearum* tiende a predominar en regiones templadas y cálidas. Los cambios en la estructura de comunidad de las especies de *Fusarium* están fundamentalmente determinados por parámetros climáticos, particularmente temperatura y humedad (Xu, 2003), y por las variedades de trigo presentes (Champbeil et al., 2004). De todas estas especies que pueden causar la enfermedad, a nivel nacional se ha cuantificado a *F. graminearum* como la especie que causa mayores daños en trigo y cebada (Pereyra y Dill-Macky, 2010).

El ciclo de la enfermedad se compone como otras enfermedades de hongos por la forma imperfecta y perfecta del mismo. La forma perfecta (sexual) es denominada *Gibberella zeae* y la imperfecta (asexual), es *F. graminearum* (Pérez, 2004). Presenta

dos tipos de esporas: los macroconidios y las ascosporas. Los macroconidios se producen en esporoquios (estructura asexual); son estructuras relativamente grandes y pesadas que se diseminan fundamentalmente por salpicado y muy poco por el viento, y por lo tanto sólo pueden ser dispersados a corta distancia (Alconada y Kikot, 2013). Mientras que las ascosporas, son estructuras más pequeñas y livianas, generadas en una estructura sexual (peritecio), son diseminadas por viento a grandes distancias (Pérez, 2004) por este motivo es que se considera que el inóculo no es limitante, ya que puede provenir desde fuentes de inóculo ubicadas a gran distancia.

Es un hongo necrótrofo (Figura No. 2), por lo tanto es capaz de sobrevivir en rastrojo pero una vez que se descompone el mismo, el hongo muere por inanición (Pérez, 2004). Además es una de las enfermedades que se transmiten muy eficientemente por semilla (Rossi y González, 2008), cuando el patógeno se encuentra allí, genera la muerte de la plántula tanto en pre-emergencia como en emergencia (Pereyra y Stewart, 2002), es decir es importante como agente represor de la germinación y de la calidad de la plántula, sin embargo en este caso no representa fuente de inóculo primario para la FE (Pérez, 2004).

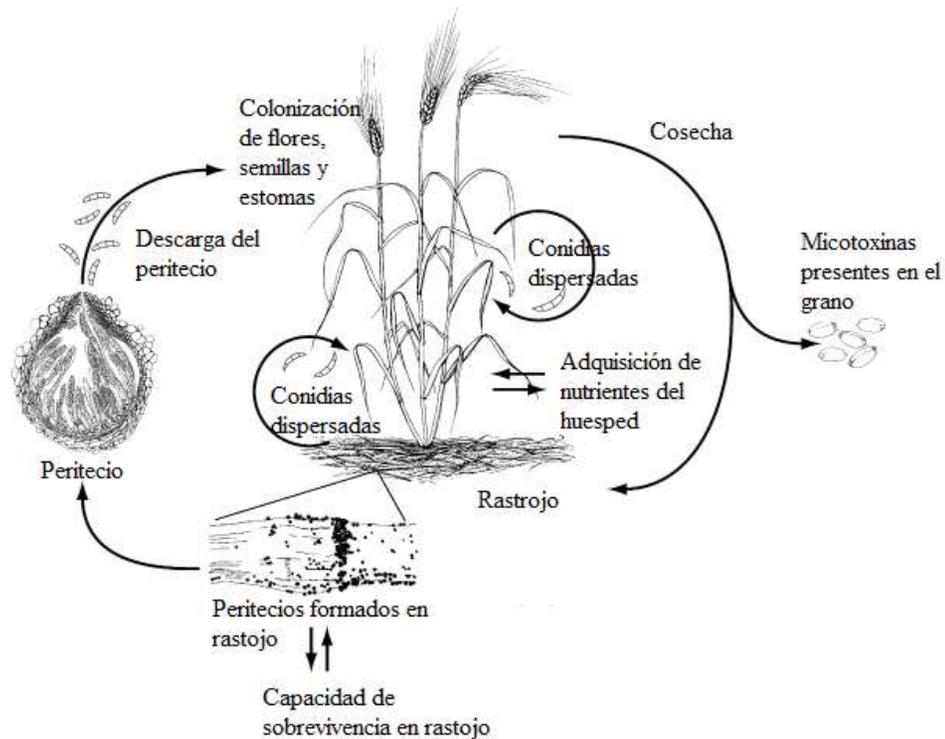


Figura No. 2. Ciclo de la fusariosis de la espiga.

Fuente: Trail (2009).

En post emergencia puede atacar raíces y cuello de las plántulas o plantas adultas y producir tizón en nudos y espigas. En otros casos el hongo puede alcanzar el interior del tallo predisponiendo las plantas al vuelco. En la espiga se ha observado sobre trigo y cebada; en el primero algunas espiguillas se secan prematuramente sin haberse llegado a formar el grano (Pereyra y Stewart, 2002).

Luego que una espiguilla fue infectada, la enfermedad puede extenderse a otras espiguillas de la espiga mediante los macroconidios (Pereyra y Acosta, 2014). El avance del hongo en la espiga puede ser vía vascular (vía raquilla y raquis) y/o en condiciones de alta humedad relativa por vía externa (Shaner et al., 2003).

Los síntomas característicos en espigas son una decoloración de las espiguillas infectadas. Si las espiguillas han sido infectadas tempranamente, se observa la presencia de signo como masas de esporas rosado-salmón y eventualmente, estructuras oscuras (peritecios) al momento de la cosecha (Díaz de Ackermann et al., 2002).

Si bien el estado fenológico más vulnerable a la infección en trigo es floración (anthesis) también se puede producir la infección en etapas posteriores, durante el llenado de grano como se dijo anteriormente. Por lo tanto las principales vías de entrada del hongo son las anteras, estomas en glumas, grietas entre lemas y páleas, aberturas temporarias de la florecilla y base de las glumas (Shaner et al., 2003). Si la infección es tardía, el desarrollo del grano no es afectado, pero los niveles de toxinas afectan la calidad del mismo generando granos chuzos, de coloración blanco-rosada a pardo clara, pudiendo ser pardo oscura en cebada (Díaz de Ackermann et al., 2002).

En cuanto a las condiciones climáticas que favorecen tanto la producción de ascosporas como la infección de espigas se encuentran condiciones de humedad alta al momento de floración de los cultivos y luego durante el llenado de grano favorecen la infección y el desarrollo de la enfermedad. Espigas mojadas durante dos a tres días (48 a 60 horas) y temperaturas óptimas de 22 a 28 °C o entre 20 y 30 °C, según indica González et al. (2001), son suficientes para producir infección. Sin embargo, el rango de temperatura en que se puede producir infección siempre que haya agua libre sobre las espigas es de 10 a 30 °C (Pereyra y Acosta, 2014). Con al menos 18 horas en condiciones favorables de temperatura, las ascosporas pueden liberarse del peritecio (Alconada y Kikot, 2013).

## 2.5 CONTROL DE *FUSARIUM*

Dada la combinación de las características de este patógeno, como la fuente de inóculo externo (Pérez, 2004), la baja resistencia genética en los genotipos actuales y la fuerte influencia ambiental hacen que la forma más adecuada para minimizar los daños causados por esta enfermedad sea el manejo integrado, siendo de esta manera que se obtiene la mayor eficiencia de control (Mazzilli et al., 2007). La suma de las diversas estrategias es el mejor manejo para reducir la FE y DON en trigo (Blandino et al., 2013).

El manejo integrado para la producción de alimentos de calidad, prioriza los métodos de producción ecológicamente seguros y económicamente viables, minimizando los efectos indeseables de los agroquímicos, para asegurar la salud ambiental y humana. Una ventaja de este manejo es la utilización de tecnología generada para la producción convencional, haciendo de la misma una producción sostenible en el tiempo (Paullier, 2005). Además con este manejo se puede incrementar considerablemente el porcentaje de muestras sin residuos de fungicidas en grano de trigo, por ende la calidad del producto y la seguridad para el mercado y el consumidor (Pérez et al., 2013).

A pesar de que las estrategias múltiples son más exitosas que una estrategia única, sólo unos pocos estudios han mostrado el efecto cuantitativo de combinar múltiples estrategias (Blandino et al., 2013). Por lo tanto se observa que hay dos instancias de toma de decisiones para el control de esta enfermedad: previo a la siembra del cultivo y posterior a la misma (Pereyra y Germán, 2012).

### 2.5.1 Manejo de la enfermedad: previo a la siembra del cultivo

Uno de los manejos más conocidos para esta enfermedad es la diversificación de la fecha de floración y es una de las medidas más importantes de prevención para minimizar los riesgos de ocurrencia de epifitía. Dicha diversificación se puede lograr a través de la siembra de diversos cultivares con distinto largo de ciclo sembrados en la misma fecha o con cultivares de largo del ciclo similar sembrados en distinta fecha. La primera es más viable a nivel de producción extensiva por las características climáticas del Uruguay que no aseguran largos períodos de siembra adecuados. La diversificación no se puede utilizar sola, ya que cuando por un largo tiempo las condiciones son favorables para esta enfermedad, esta técnica no es suficiente, así como ocurrió en los

años 2001 y 2002 (Pérez, 2004).

También se puede utilizar la resistencia genética de los cultivares. Hasta el momento los programas de mejoramiento han logrado materiales menos susceptibles, pero el éxito en la obtención de materiales de buen comportamiento ha estado limitado por la característica de la resistencia genética para esta enfermedad, ya que ha sido un carácter difícil de combinar con características como adaptación, rendimiento y buena calidad industrial (Díaz de Ackermann et al., 2002).

Otro manejo adecuado es la correcta planificación de la rotación de cultivos. Esta práctica es fundamental para minimizar la presión de inóculo, que determinará en gran medida la severidad del ataque. Lo más importante es que no se debe considerar la siembra de un cereal de invierno sobre rastrojo de otro o el mismo cereal de invierno (Pérez, 2004). Además es conveniente evitar la siembra de trigo sobre rastrojos infectados de maíz ya que es uno de los cultivos de mayor contribución de inóculo. También se debe evitar la siembra de trigo o cebada en chacras vecinas a rastrojo infectado ya que las esporas capaces de infectar nuevos cultivos pueden ser transportadas por el viento de una chacra a otra (Díaz de Ackermann et al., 2002).

Hay otras prácticas deseables desde el manejo sanitario, pero que atentan contra la conservación del suelo, como por ejemplo enterrar el rastrojo. El enterrado acelera el proceso de mineralización del rastrojo e impide la multiplicación del hongo pero esto va en contra de sistemas de siembra directa. Para años excepcionales se debería considerar el retiro del rastrojo infectado o eventualmente la quema, pero este también es un manejo que va en contra del manejo de conservación del suelo, ya que reduce la cobertura del suelo (Siri y Ernst, 2009). Otra medida que contribuye a la reducción del inóculo por acelerar la descomposición del rastrojo es la distribución adecuada del rastrojo en la chacra mediante el uso de desparramadores de paja y el picado del mismo (Díaz de Ackermann et al., 2002). Estas prácticas no pueden ser consideradas como individuales ya que en años con condiciones favorables generalizadas no hay un efecto marcado del cultivo predecesor, sin embargo, en años normales, los niveles de FE son significativamente mayores sobre rastrojo de trigo, cebada y maíz respecto a otros rastrojos (Pereyra y Acosta, 2014).

Ninguna de estas técnicas analizadas es efectiva cuando es utilizada de forma única, como se dijo anteriormente, el manejo integrado es el que ha mostrado mayor efectividad al momento del control.

### 2.5.2 Manejo de la enfermedad: luego de la siembra

El control químico se realiza de forma preventiva ya que luego de la aparición de los síntomas, no es efectiva dado que los fungicidas no pueden penetrar los tejidos de la espiga y alcanzar al blanco, por lo que la misma debe hacerse previo al momento de infección (Reis y Carmona 2002, Moschini et al. 2003, Pérez 2004).

Para el manejo preventivo existen en el mercado moléculas que son muy efectivas contra esta enfermedad, como el metconazol y el tebuconazol pero, como se dijo anteriormente no pueden traslocarse ni penetrar en la espiga, por lo que deben estar presente en la superficie vegetal previo a que el hongo penetre en los tejidos de la espiga (Díaz et al. 2002, Pereyra 2013).

Otros autores como Díaz de Ackermann y Pereyra (2011), Pereyra (2013) afirman que los fungicidas más eficientes son los pertenecientes a la familia de los triazoles, mezclas de triazoles, benzimidazoles, o mezclas de ambos. Por ejemplo: carbendazim + epoxiconazol, metconazol + epoxiconazol, Además los fungicidas inhibidores de la desmetilación (DMI), como el tebuconazol, procloraz, metconazol o la mezcla de protioconazol y tebuconazol muestran efectividad contra esta enfermedad (Blandino et al. 2006, Lechoczki-Krsjak et al. 2008).

De la totalidad de ensayos de control de FE llevados a cabo entre 1991-2002, se resume que para las aplicaciones de tebuconazol la eficiencia promedio fue de 44%, variando entre 38 y 52%, mientras que para metconazol la eficiencia fue de 51%, con variaciones entre 28 y 65%. Es decir ambos tienen una buena eficiencia de control (Díaz de Ackermann 2004, Pereyra y Díaz de Ackermann 2009). Menniti et al. (2003) obtuvieron la misma eficiencia con tebuconazol y una eficiencia similar (50 a 55%) con epoxiconazol en una zafra con niveles medios de enfermedad (% de enfermedad). Pirgozliev et al. (2002) afirman que el fungicida más efectivo es el metconazol ya que generó controles mayores al 97%.

A pesar de que las mezclas de triazoles y estrobilurinas logran controlar eficientemente la FE no se recomiendan, porque los contenidos de DON en grano cosechado frecuentemente se encuentran en niveles similares a los testigos sin aplicación de fungicida (Pirgozliev et al. 2002, Díaz de Ackermann y Pereyra 2011, Pereyra y Acosta 2014). Tampoco se recomiendan aplicaciones de fungicida en estados avanzados de llenado de grano, a partir de ¼ grano desarrollado (Pereyra y Acosta, 2014). Aplicaciones a inicio de floración o en doble aplicación (inicio y mediados de floración),

generan mayores retornos económicos (Díaz de Ackermann y Pereyra 2011, Blandino et al. 2013, Pereyra 2013).

Respecto a la forma de aplicación las mayores eficiencias de control de FE se logran con una buena cobertura en el cultivo, para esto se realiza la aplicación con boquilla doble abanico plano de aspersores tipo TwinJet60@FIG.J. (Díaz de Ackermann y Pereyra 2011, Pereyra y Acosta 2014). La misma deposita al fungicida en ambos lados de la espiga lo que es de suma importancia ya que como se mencionó anteriormente, no hay translocación en la espiga (Díaz et al. 2002, Pereyra y Stewart 2002).

El volumen de aplicación también es importante en la eficiencia de control ya que mayores volúmenes aseguran mejores cobertura de la espiga; aplicación terrestre con volúmenes de agua mayores a 100 l/ha son más eficiente que las aplicaciones aéreas (Pérez, 2004).

En un cultivar moderadamente resistente, una única aplicación a inicio de floración es suficiente para obtener menor infección de FE, mayor rendimiento en grano, y mayor peso hectolítrico, sin embargo, en un cultivar altamente susceptible se recomiendan dos aplicaciones (Z61+Z65) ya que se logran mayores eficiencias de control que con una sola aplicación a Z61 o sin aplicación, a su vez permitió mayores rendimientos, peso de mil granos y peso hectolítrico (Pereyra, 2013).

Los antecedentes de control químico indican que en general la eficiencia de control es baja a intermedia, debido principalmente al corto período para la aplicación del fungicida en el momento adecuado, ya que las condiciones de lluvia que favorecen la enfermedad limitan la oportunidad de aplicación (Díaz de Ackermann et al., 2002). Por este motivo se han desarrollado diferentes modelos como ayuda a la toma de decisión al momento de aplicar. Se detallarán los tres modelos principales.

El modelo de Moschini y Fortugno (1996) es el que según Mazzilli et al. (2007) a nivel regional presenta mayor ajuste en el país. Dicho modelo considera que la infección por *F. graminearum* ocurre cada vez que se confirma la ocurrencia de un periodo crítico de infección dentro del período de susceptibilidad del cultivo a la enfermedad (floración). El período crítico de infección es definido por un conjunto de dos días, en el cual en el primer día ocurren lluvias (> 0,2 mm) y alta humedad relativa (> 81%) y en el segundo día la humedad relativa debe ser mayor o igual a 78%.

El segundo modelo es el DONCast desarrollado por Hooker et al. (2002) para trigo en Ontario (Canadá) y adaptado para Uruguay por INIA. Este se utiliza para

predecir el riesgo de acumulación de DON en el grano a cosecha (Díaz de Ackermann y Pereyra, 2011).

Este modelo considera las variables: humedad relativa a la hora 11, precipitaciones 20 a 36 días luego de la espigazón, y temperatura máxima 10 a 18 días luego de la espigazón. Para los pronósticos de DONCast, se utilizan datos provistos por la dirección nacional de meteorología y las estaciones agroclimáticas de INIA. El modelo está disponible cada zafra para el cultivo de trigo desde septiembre hasta mediados de noviembre desde el año 2004 en la página web de INIA (INIA. GRAS e INUMET, 2013). La salida del modelo son mapas diarios de niveles de DON a cosecha para cada fecha de espigazón. El DONCast ha mostrado un buen ajuste para las condiciones de Uruguay (Schaafsma et al., 2005), sin embargo, hay claras evidencias de que no siempre existe estrecha relación entre los niveles de infección en grano y los niveles de DON en los mismos (Magan et al. 2002, Birzele et al. 2002).

El tercer modelo es el de Mazzilli et al. (2011), este propone un manejo basado en el pronóstico climático del periodo de infección para realizar las aplicaciones. El manejo se basa en una adaptación del modelo de Moschini y Fortugno (1996), el cual se basa en la combinación de los factores climáticos como precipitaciones, humedad relativa y temperatura, para fechas de espigazón de fines de setiembre a fines de octubre. Mazzilli et al. (2011) sugieren que el volumen total de precipitaciones es un mal indicador de las condiciones predisponentes para la enfermedad, en cambio el número de eventos de lluvia es la principal variable en definir la existencia de períodos de infección cuando la temperatura no es limitante.

Según los resultados obtenidos por Mazzilli et al. (2011) el nivel de infección final de FE observado a cosecha es el resultado de la acumulación de eventos puntuales de infección durante todo el período de susceptibilidad y no parece estar asociado a un único evento, coincidiendo con lo expresado por Moschini y Fortugno (1996). Esto agrega complejidad para decidir un control químico, ya que a través de los pronósticos climáticos de corto plazo se puede estimar con adecuada precisión si van a existir períodos críticos en los próximos 3-4 días, pero no existe precisión para saber qué va a suceder durante todo el periodo de floración (Mazzilli et al., 2011).

Sumado a esto, el valor del grano de trigo ha venido disminuyendo en los últimos años, por lo que los productores se encuentran adversos al riesgo (MGAP. DIEA, 2013). Con lo anterior se puede resumir las medidas para el control de *Fusarium* (Cuadro No. 1).

Cuadro No. 1. Efectividad de las medidas para el control de *Fusarium*.

	Elección del cultivar	Laboreo	Rotación de cultivos	Elim. de pl. guachas	Fecha de siembra	Sanidad de semilla	Apl. de fung.
Efectividad de control	Media	Media	Media	Baja	Alta	Nula*	Media

\*Sin efecto para control de la FE pero sí para el marchitamiento de plántulas causado por *Fusarium* sp.

Fuente: adaptado de Pereyra y Díaz (2011).

## 2.6 FUNGICIDAS UTILIZADOS EN EL CONTROL QUÍMICO

En la actualidad los sistemas son poco diversos y el hombre los hace más homogéneos al buscar soluciones iguales para sistemas diferentes. Los pocos cultivos explotados generan una secuencia de cultivos pobre, además de que se realiza agricultura continua sin rotación con pasturas (Pérez et al., 2011). Todo esto ha generado un incremento en el crecimiento de plagas, enfermedades y surgimiento de plagas emergentes entre otros (Paullier et al., 2005). Lo que ha llevado a un uso masivo de plaguicidas para evitar pérdidas económicas, dentro de estos se encuentran los fungicidas.

El Codex Alimentarius define un pesticida (en las que están incluidos los fungicidas) como cualquier sustancia destinada a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, o que pueda administrarse a los animales para combatir ectoparásitos (FAO, 2016), mientras que la Unión Europea (UE) lo define como un producto que contenga o esté compuesto de sustancias activas, protectores o sinergistas. Protegiendo los vegetales o los productos vegetales de todos los organismos nocivos o evitando la acción de estos (UE. PE y UE, 2009).

### 2.6.1 Importación de fungicidas

El crecimiento de usos de plaguicidas ha acompañado el desarrollo de las actividades agropecuarias y en los últimos 20 años su importación ha crecido de forma exponencial. Dentro de los plaguicidas, fueron los herbicidas e insecticidas los que experimentaron mayor crecimiento en el período 1996-2015, los primeros tuvieron un aumento de 11.986.557 kg de activo y los segundos tuvieron un crecimiento de 1.964.271 kg de activo hasta el 2013, pero luego se redujo su importación hasta el año 2015. Los fungicidas, también experimentaron una tendencia de crecimiento aunque no tan pronunciada, partiendo en el año 1996 con la importación de 995.778 kg de activo y llegando a un máximo importado en 2014 de 1.718.228 kg de activo, presentando hacia el 2015 un descenso de 634.745 kg de activo (MGAP. DIEA, 2015b).

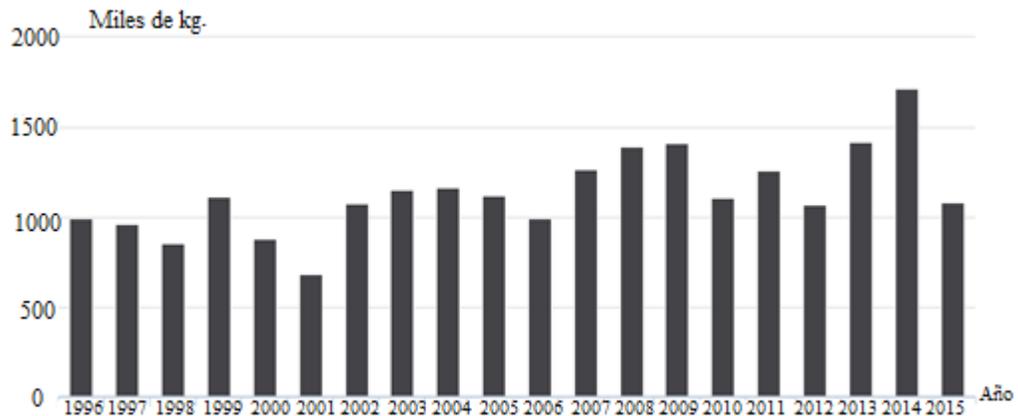


Figura No. 3. Cantidad de fungicidas importados por Uruguay en el período 1996-2015.

Fuente: MVOTMA. DINAMA y MGAP. DGSSAA (2015).

### 2.6.2 Fungicidas utilizados para el control de FE

Dado que varios autores como Díaz de Ackermann y Pereyra (2011), Pereyra (2013) afirman que los fungicidas pertenecientes a la familia de los triazoles y benzimidazoles son los fungicidas más eficientes para el control de esta enfermedad, se utilizaron cuatro fungicidas pertenecientes a estos grupos químicos (carbendazim, epxiconazol, metconazol y tebuconazol), para poder evaluar distintas alternativas de control químico; estos se describen en materiales y métodos.

Los fungicidas necesitan tiempo para degradarse en un 100%, por lo que, al momento de la cosecha, aún pueden haber residuos de estos en los granos. Se entiende por residuo de fungicida cualquier sustancia especificada presente en alimentos o productos agrícolas como consecuencia del uso de un fungicida. El término incluye también cualquier derivado, productos de conversión, metabolitos, productos de reacción o a las impurezas que se considera tienen una importancia toxicológica (FAO, 2016) y es el segundo objetivo de este estudio, poder detectarlos a través de un método analítico adecuado.

## 2.7 RESIDUO DE FUNGICIDAS EN GRANO DE TRIGO

La Unión Europea (UE) define un residuo de producto fitosanitario como una o varias sustancias que se encuentren en o sobre vegetales o productos de origen vegetal, productos animales comestibles, o componentes del medio ambiente, que constituyan los restos de la utilización de un producto fitosanitario, incluidos sus metabolitos y los productos resultantes de su degradación o reacción (UE, 2007).

Estos residuos generan que los alimentos no sean inocuos para los seres humanos, por lo tanto a nivel mundial se han estudiado y se han limitado sus cantidades para que los alimentos puedan ser comercializados (Pareja, 2012). Algunos principios activos utilizados, pueden persistir por largos períodos en los ecosistemas, pudiendo entrar en la cadena alimenticia, biomagnificarse y acumularse en tejidos del organismo, llegando a concentraciones mayores que las que se encuentra en el ambiente (Pareja, 2012).

Este problema de la presencia de residuos de fungicidas en los alimentos está incrementando su importancia y se ha convertido en una constante preocupación para los consumidores (Coscollá 1993, Guerrero 2003). Por más de que esto es una preocupación a nivel mundial, los países más ricos son menos susceptibles a la inseguridad alimentaria (FAO, 2016) porque establecen límites máximos de residuos (LMRs) permitidos en los alimentos. Este límite se define como la máxima cantidad de residuos de un determinado plaguicida (expresada en mg/kg) permitida legalmente en la superficie o la parte interna de productos de alimentación para consumo (Coscollá 1993, FAO 2016).

La determinación de los LMRs pretende que la ingestión diaria del residuo considerada, no provoque efectos nocivos durante toda una vida. Para ello se determina el nivel sin efecto en animales de experimentación y luego se extrapola al hombre, aplicando coeficientes de seguridad y expresándose como ingesta diaria admisible (IDA, Coscollá, 1993).

La IDA de un producto químico es, la cantidad que consumida durante toda la vida no conlleva riesgos aparentes para la salud de los consumidores. Se expresa en miligramos de producto químico por kilogramo de peso corporal (FAO, 2013). Por su parte las buenas prácticas agrícolas (BPA) aportan a mantener niveles por debajo de la IDA, una de ellas es aplicar fungicidas solo cuando sea necesario, eligiendo adecuadamente el principio activo, dosis, momento y forma de aplicación (Coscollá, 1993), con el objetivo de que los alimentos se ajusten a los respectivos LMRs, es decir que sean toxicológicamente aceptables, para asegurar la salud de los consumidores.

La parte del producto bruto agrícola a la que se le aplica el LMRs y que ha de prepararse como muestra analítica para la determinación de residuos de fungicidas es en el caso del trigo el producto entero (FAO, 1993b).

A nivel internacional tanto el Codex Alimentarius como la UE establecen LMRs (Cuadro No. 2). Los mercados mundiales actuales son cada vez más exigentes en cuanto a la inocuidad de los alimentos, por lo tanto actualmente se toleran menores niveles de residuos en los mismos, es decir se toleran menores LMRs. Esto conlleva a los laboratorios de análisis a usar metodologías analíticas avanzadas y más exactas para la determinación de residuos en los alimentos (Pareja, 2012).

Cuadro No. 2. Límites máximos de residuos establecidos por el Codex Alimentarius y la Unión Europea.

LMRs. (mg/kg)	Codex	Año de adopción	Unión Europea	Año de adopción
Carbendazim	0,05	2006	0,1	2016
Epoconazol	//	//	0,6	2016
Metconazol	//	//	0,15	2016
Tebuconazol	0,15	2012	0,1	2016

Fuente: EC. EFSA (2016), FAO (2016).

## 2.8 MÉTODOS DE DETECCIÓN DE RESIDUO DE FUNGICIDA EN GRANO DE TRIGO

Los fungicidas pueden encontrarse en los alimentos y en el ambiente a nivel de trazas, es decir en el orden de los ng, µg o mg/kg (Pareja, 2012). Para poder detectar y cuantificar esos residuos que quedan en los alimentos se utilizan métodos de análisis. El método de análisis hace referencia a un método que determina un valor al que puede llegarse sólo en términos del método mismo y que, por definición, es el único método para establecer el valor aceptado del parámetro medido (FAO, s.f.).

En la actualidad hay instrumentos de laboratorio que han facilitado el desarrollo de metodologías analíticas que permitan la separación, identificación y cuantificación de un gran número de compuestos de forma simultánea, pero a pesar de la alta sensibilidad de estos instrumentos, la concentración a la cual se encuentran dichos residuos en los alimentos es tan baja que exigen el ajuste de metodologías de extracción y purificación que permiten buenos resultados para las distintas matrices, y poder evitar sobre o sub cuantificación de los residuos estudiados (Niell et al., 2010). Además las metodologías deben presentar varias etapas para evitar que otros compuestos químicos que se encuentran en las matrices, como pueden ser, agua, suelo, tejidos entre otros, no interfieran en el análisis (FAO, 1993a, Figura No. 4).

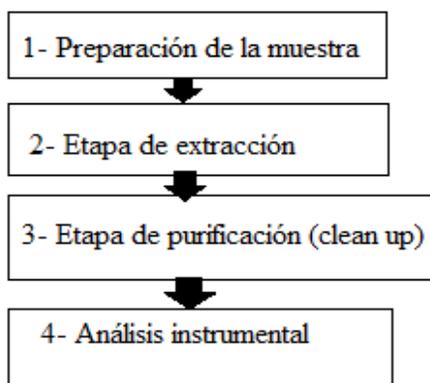


Figura No. 4. Etapas de la metodología analítica.

Primero se debe preparar la muestra, el Codex Alimentarius establece que partes de cada alimento se debe analizar (Pareja, 2012); en el caso del grano de trigo se

analizará el grano entero (FAO, 1993a).

La segunda etapa se la conoce como etapa de extracción, y como define Pareja (2012) *consiste en la remoción de él o los fungicidas de los componentes mayoritarios de la matriz. Obteniendo una solución que consta de los analitos de interés más los compuestos co-extraídos en esas condiciones. La extracción depende de la polaridad y del tipo de matriz.*

La extracción con solvente es una de las técnicas más usadas, solas o combinadas con alguna forma de agitación mecánica para aumentar la eficiencia de la extracción, por ejemplo ultrasonido o shaker. Los solventes más comunes para la extracción de pesticidas son el acetonitrilo (ACN), el acetato de etilo (AcOEt) y la acetona ya que permiten la extracción de un gran número de pesticidas. La selección de un solvente u otro depende de la composición química de la matriz y de las características de los pesticidas a analizar (Pareja, 2012).

La tercer etapa es la etapa de purificación (clean-up), esta consiste en la eliminación de los co-extractivos de la matriz, es decir que facilita la eliminación de los compuestos presentes en la matriz que podrían provocar interferencias en el análisis cromatográfico, como los lípidos, azúcares, ácidos orgánicos y pigmentos (Cromlamb, s.f.). Una vez homogeneizada la muestra, debe conservarse en freezer hasta el momento de su análisis.

La última etapa es de análisis instrumental donde se hace la identificación, confirmación y cuantificación de los residuos extraídos (FAO, 1993a). Esta etapa de análisis instrumental es de suma importancia ya que no es lo mismo utilizar un instrumento que utilizar otro para detectar los residuos.

Luego de conocer las etapas que se requieren para la extracción, es importante elegir un método con el cual se extraigan correctamente los residuos del material vegetal, en este caso se eligió un método multiresiduo ya que se debieron detectar cuatro principios activos diferentes.

### 2.8.1 Metodologías multiresiduo

En la actualidad se han desarrollado metodologías multi-residuo, como por ejemplo el método de QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe), el método de acetato de etilo miniaturizado y el método de mini-Luke. Estos son los de preferencia debido a que permiten analizar un gran número de analitos simultáneamente. Estos métodos utilizan una baja cantidad de muestra, de reactivos y solventes volviéndose rápidos, sencillos, y menos nocivos para el medio ambiente (Anastassiades et al., 2003).

Dependiendo del fungicida que se quiere analizar es el método que se va a utilizar. En el caso de fungicidas más apolares, la extracción se puede llevar a cabo usando hexano, acetato de etilo o acetona, mientras que para los más polares, las extracciones suelen realizarse con metanol, acetonitrilo o agua (Vargas de la Cruz, 2012).

El método de AcOEt ha sido muy utilizado para la extracción de residuos de fungicidas en muestras de origen vegetal. Presenta la ventaja de utilizar acetato de etilo, este se caracteriza por ser un disolvente inmiscible con el agua, permitiendo la separación de ambos sin la necesidad de usar disolventes no polares. El inconveniente de su uso es que no es capaz de extraer aquellos fungicidas más polares e iónicos, como ocurre con los fungicidas fuertemente básicos en muestras de carácter ácido. La extracción con acetato de etilo ha sido aplicada a las dos técnicas de separación, cromatografía gaseosa y líquida, acopladas a MS original (Vargas de la Cruz, 2012).

La metodología de mini Luke se basa en la extracción con acetona y el posterior reparto de los fungicidas con éter de petróleo, seguido de una extracción con diclorometano. Posteriormente puede o no realizarse una etapa de clean-up con adsorbentes adecuados previo al análisis mediante cromatografía líquida o gaseosa acoplada a espectrometría de masas (NVWA et al., 2014).

El método de QuEChERS fue desarrollado en el año 2003 y es muy empleado para el análisis multi-residuo por su alta eficiencia, bajo costo, sencillez y mínimo número de pasos como lo indica su nombre (Anastassiades et al., 2003). Se basa en extracción con ACN, una etapa posterior de salting-out, luego una etapa de clean-up para remover interferencias de la matriz (Pareja, 2012).

Este método se utilizó para el análisis de 62 pesticidas en harina de arroz, trigo, centeno y avena en un laboratorio de referencia para pesticidas en cereales y alimento de animales, obteniéndose buenas recuperaciones, es decir en el rango 75-115% con un límite de cuantificación (LOQs) de aproximadamente 10 µg/kg (Pareja, 2012). Además Strada et al. (2012) utilizaron esta metodología para el análisis de fungicidas en grano de maíz y de trigo, a su vez, Rojas et al. (2014) la utilizaron para grano de maíz y obtuvieron buenos resultados.

También se han desarrollado variantes de este método y se han utilizado para el análisis de residuos de pesticidas en cereales como el arroz, ya que es fácilmente adaptable según el tipo de matriz, los pesticidas a analizar y el equipamiento del laboratorio (Pareja, 2012).

#### 2.8.1.1 Métodos instrumentales de análisis

Según el artículo de FAO (1993a) hay varios métodos de detección que se pueden utilizar, algunas de ellos son a través de cromatografía líquida (CL) o cromatografía gaseosa (CG) y espectrometría de masas, cromatografía líquida con detector de arreglo de diodos (CL-DAD) o exploración mediante UV, CL-fluorescencia, 2-D cromatografía en capa fina- (espectrofotometría), cromatografía de gases con detector de captura de electrones, detector nitrógeno flúor, detector de fluorescencia, Derivación, CL-inmunograma y cromatografía líquida UV visible. Los mismos métodos de detección reconocen Krska y Molinelli (2009) para métodos de detección de las toxinas segregadas por el hongo. Strada et al. (2012) realizaron su determinación mediante cromatografía gaseosa con detector de espectrometría de masas y obtuvieron buenos resultados.

La cromatografía líquida años atrás era poco utilizada para el análisis de residuos de pesticidas pero al irse desarrollando compuestos cada vez más polares, de menor volatilidad y más termolábiles, que no pueden ser analizados por GC, impulsó un aumento en el número de métodos analíticos que empleaban cromatografía líquida primero con detector UV, posteriormente con LC-DAD y en los últimos años con la incorporación de instrumentos de cromatografía líquida con espectrofotometría de masas (LC-MS) y doble masa que proveen una gran sensibilidad y eficiencia (Pareja, 2012).

El análisis de residuos mediante espectrometría de masas se aplica con una técnica cromatográfica de separación, para obtener simultáneamente datos sobre el tiempo de retención, la relación masa/carga en los iones y su abundancia. La

confirmación más definitiva de la presencia de un residuo de fungicidas es mediante la formación de su espectro “completo” de masas mediante ionización por impacto electrónico (FAO, 1993a).

Para tener en cuenta, dentro de la cromatografía líquida, existen diferentes tipos de fuentes de ionización como por ejemplo electrospray, termospray, particlebeam, foto-ionización a presión atmosférica e ionización a presión atmosférica, siendo esta última una de las más utilizadas (Pareja, 2012).

Los espectrómetros de masas con analizadores de triple cuadrupolo (QqQ) son una buena herramienta en el caso de métodos de multi-residuo debido a la elevada selectividad y sensibilidad que ofrecen. Este tipo de analizador es en general incorporado en los sistemas LC-MS/MS (Pareja, 2012).

## 2.9 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

La validación de un método es el proceso mediante el cual se verifica la idoneidad del método (FAO, 1993a); es una exigencia de organismos nacionales e internacionales y debe realizarse para todos los pasos involucrados, de esta forma se asegura que los resultados analíticos arrojados por el método sean confiables (Pareja, 2012). La validación se realiza generalmente una vez que se ha terminado de desarrollar el método y se supone que se han establecido de manera satisfactoria la calibración, la idoneidad del sistema, la estabilidad del fungicida, entre otros (FAO, 1993a).

A nivel internacional, organismos tales como la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, International Standardization Organisation, Codex Alimentarius y Association of Official Analytical Chemists International han establecido guías para la validación de métodos. En general los métodos de análisis de residuos de pesticidas en alimentos se basan en los criterios establecidos por la DG SANCO (Taverniers et al., 2004).

En la práctica, la validación de un método se realiza mediante la evaluación de una serie de características o parámetros que describe DG-SANTE (2016) tales como precisión, exactitud, selectividad/especificidad, linealidad, límite de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ), efecto matriz y robustez. A continuación se pasan a describir dichos parámetros, definiciones brindadas por la DG-SANTE (2016):

- Precisión es el grado de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos en condiciones establecidas, la precisión puede evaluarse mediante repetitividad y reproducibilidad.
- Repetitividad se define como la precisión (desviación estándar) de medición de un analito (por lo general obtenido de la recuperación o análisis de materiales de referencia), obtenidos utilizando el mismo método, en la misma muestra en un solo laboratorio en un corto período de tiempo durante el cual no existen diferencias en los métodos, analistas, materiales y/o equipos involucrados.
- Reproducibilidad es el grado de conformidad entre los resultados obtenidos con el mismo método en porciones analíticas idénticas, por distintos analistas que utilizan diferentes equipos (reproducibilidad dentro del laboratorio). Análogamente, cuando los ensayos se efectúan en laboratorios diferentes se obtiene la reproducibilidad entre laboratorios (FAO, 1993a).
- Exactitud o veracidad se define como el grado de concordancia entre el resultado experimental y el valor de referencia aceptado (valor real). En el caso de existir materiales de referencia se expresa como el z-score, en ausencia de materiales de referencia se expresa como el porcentaje de recuperación (DG SANTE, 2016).
- Selectividad o especificidad es la habilidad del detector de dar señales que identifiquen el fungicida de forma efectiva.
- Linealidad es la habilidad del método de obtener resultados experimentales (en un determinado rango) proporcionales a la concentración del analito.
- Límite de detección es la concentración mínima del analito que puede ser determinada cuantitativamente con una precisión y veracidad adecuada.
- Límite de cuantificación se define como la mínima concentración o masa del analito que puede ser cuantificada con una exactitud y precisión adecuada (media de recuperación para cada producto representativo en el rango de 70 a 120%, con una RSD  $\leq 20\%$ ) (DG SANTE, 2016).
- Robustez es la medida de la capacidad de un procedimiento analítico de permanecer inalterado por pequeñas y deliberadas variaciones en los parámetros operacionales del método y que provee la seguridad de obtención de resultados confiables durante su normal ejecución.

- El efecto matriz (EM) es la influencia de uno o más componentes de la muestra detectados durante la medición de la masa o concentración de un analito. La respuesta de ciertos analitos en algunos sistemas de determinación (por ejemplo, GC, LC-MS) puede verse afectada por la presencia de compuestos co-extraídos de la muestra (matriz). A pesar de que el mecanismo exacto de supresión o aumento de la señal ocasionado por la matriz no se conoce exactamente se observan como un aumento o disminución de la respuesta del detector, en comparación con la producida por soluciones en disolvente (Hajšlová y Zrostlíková, 2003).
- Para detectar si hay o no efecto matriz se debe comparar la respuesta producida por el compuesto analizado en solvente, con la respuesta que se obtiene de la misma cantidad de analito en matriz, esto se puede realizar con la comparación de la pendiente de la curva de calibración de un analito en solvente y en matriz (Pareja, 2012).

## 2.10 ANTECEDENTES DE RESIDUOS DE FUNGICIDAS EN GRANO

En Uruguay actualmente hay poca información disponible sobre los residuos de fungicidas utilizados para el control de FE en trigo, pero se encontraron a nivel nacional e internacional trabajos en los que se determinaba el residuo de otros fungicidas en grano de trigo y otros granos.

A nivel nacional se realizó un estudio en el que se determinaron los residuos de distintos pesticidas utilizados en el cultivo de arroz en grano. En el mismo se utilizaron las metodologías basadas en el método de QuEChERS y se utilizó el método cromatográfico LC-DAD. Se concluyó que los residuos de pesticidas encontrados en las muestras comerciales de arroz cumplen con los LMRs establecidos por las normativas internacionales para este alimento (Pareja, 2012).

Otro estudio realizado por la División General de Servicios Agrícolas del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, evaluó los residuos de distintos plaguicidas, entre ellos tebuconazol y epoxiconazol en semillas de trigo, en el cual no se detectaron residuos (MGAP. DGSSAA, 2013).

A nivel internacional, en Argentina se evaluaron residuos de plaguicidas en granos de maíz y trigo posterior a la aplicación en el almacenamiento y en el campo, donde Strada et al. (2012) sembraron dos cultivares en sus fechas óptimas, ACA 304 y BIOINTA 3000, en la provincia de Córdoba. Las aplicaciones que se realizaron fueron

en espigazón con tebuconazol en dos dosis, una normal, correspondiendo a aquella recomendada por CASAFE (2007) y una dosis alta, que fue un 50% superior a la normal recomendada. En los resultados se observó que en los ensayos en el campo, hubo valores de residuos de tebuconazol en granos de trigo que exceden los LMRs (0,15 mg/kg) establecido por FAO (2011); se obtuvo para dosis normal un residuo de 0,40 mg/kg en ACA 304 y 0,44 mg/kg en BIOINTA 3000, y para dosis alta 0,69 mg/kg en ACA 304 y 0,94 mg/kg en BIOINTA 3000. Estos autores concluyen que es necesario considerar la condición ambiental del año, ya que es posible que aun respetando las indicaciones de uso, en años secos se encuentren niveles de residuos en los granos por encima de los LMRs. La extracción se realizó con una variante del método QuEChERS. Además se evidenció que a mayores dosis aplicadas existen mayores niveles de residuos del fungicida en los granos cosechados. No existe evidencia estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ) de la interacción dosis-cultivar-fecha de siembra.

En China, en un estudio de determinación de residuo de propiconazol en grano, en hojas y paja de trigo, se determinaron residuos de fungicida en grano y suelo, aunque a valores insignificantes, pero los residuos en hojas y paja fueron considerables, especialmente en los tratamientos con mayor volumen que el recomendado (Bai y Liu, 1986). Los residuos encontrados en todas las muestras de granos no fueron mayores de 0,01  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , indicando que estaría por debajo del LMR establecido para dicho compuesto, que según la UE es de 0,04 mg/kg (UE. PE y UE, 2005). Los residuos en grano, se extrajeron con metanol, se repartieron en cloruro de metileno y se purificaron en una columna de alúmina básica; se midieron cuantitativamente mediante cromatografía gas-líquido, utilizando un detector alcalino de ionización de llama en el modo sensible al nitrógeno.

Existen trabajos que demuestran que las condiciones ambientales ejercen influencia sobre los valores de residuos de plaguicidas encontrados en diferentes alimentos de origen vegetal. Estos residuos pueden ser disminuidos por dos causas; la primera llamada fenómeno de ‘eliminación aparente’ en el cual con el crecimiento del vegetal, al aumentar el peso de la planta la cantidad relativa del fungicida por planta queda reducida, y la segunda conocida como ‘eliminación mecánica’ y refiere a la acción de fenómenos meteorológicos, como lluvias y viento, que disminuyen el depósito inicial de plaguicida sobre el tejido vegetal (Coscollá, 1993).

A modo de síntesis, dada la dificultad de control de la FE y tomando en cuenta que la utilización de fungicidas en forma preventiva es el manejo más utilizado por los productores para controlar esta enfermedad, se evaluaron diferentes alternativas de control químico y su eficiencia. A su vez las aplicaciones son muchas veces realizadas

innecesariamente, ya sea porque no se da el evento de infección o los productores no están dispuestos a correr riesgos; pudiendo generar residuos de fungicidas en los granos de trigo, por lo tanto, esto podría ser perjudicial para la salud de los consumidores si excedieran los límites máximos establecidos. Respondiendo a esta otra problemática, se ajustaron metodologías analíticas de detección de residuo para los cuatro fungicidas más utilizados, dado que a nivel nacional hay muy poca información de residuos de fungicidas en granos y los mercados están siendo cada vez más exigentes en cuanto a inocuidad de los alimentos.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevaron a cabo dos ensayos a campo en los años 2015/16; estos experimentos comenzaron con la siembra del trigo los días 17/7/15 y el día 10/6/16 en la estación experimental “Dr. Mario A. Cassinoni” (EEMAC) en las coordenadas 32°22'38.15"S de latitud y 58° 3'29.52"O de longitud (Google Earth Pro).

El experimento fue realizado sobre un suelo del grupo CONEAT 10.9, este suelo se clasifica como brunosol eutrico lúvico LAc., textura FAcL., de fertilidad alta. Está conformado por los horizontes A-Bt1-Bt2, con una profundidad de 69 cm y su índice de productividad CONEAT es 149. La pendiente es de 1-2%, con drenaje moderado, no es inundable y el material madre son sedimentos LAc. (INIA. GRAS, s.f.).

#### 3.1 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el 2015 el ensayo se conformó por 56 parcelas, de 5 m de longitud por 1 m de ancho, es decir que cada parcela abarcó una superficie de 5 m<sup>2</sup>, distanciadas entre sí a 0,5 m, distribuidas en 4 bloques completos al azar, con una distancia entre los mismos de 2 m, los cuales estaban formados por 14 parcelas cada uno, correspondiendo a 14 tratamientos diferentes (Cuadro No. 3). La población objetivo fue de 40 plantas/m para ambas variedades. Se sembró a una densidad de 120 Kg/ha (variedad Fuste) y 116 Kg/ha (variedad Baguette 9).

Cuadro No. 3. Momento, principio activo y variedad según tratamiento evaluado en el año 2015.

<b>Variedad</b>	<b>Principio activo</b>	<b>Momento</b>	<b>Fecha de aplicación</b>
Fuste	Ninguno	Ninguno	Ninguna
	Carbendazim	Z61	21/10
	Tebuconazol	Z61	21/10
	Met. + epoxi.	Z61	21/10
	Carbendazim	Z61+Z65	21/10 y 5/11
	Tebuconazol	Z61+Z65	21/10 y 5/11
	Met. + epoxi.	Z61+Z65	21/10 y 5/11
Baguette 9	Ninguno	Ninguno	Ninguna
	Carbendazim	Z61	28/10
	Tebuconazol	Z61	28/10
	Met. + epoxi.	Z61	28/10
	Carbendazim	Z65	7/11

	Tebuconazol	Z65	7/11
	Met. + epoxi.	Z65	7/11

Para el análisis de los datos de campo se utilizó el paquete estadístico InfoStat versión 2008. El diseño experimental del 2015 fue un DBCA con 14 tratamientos y 4 repeticiones, y el diseño estadístico fue un factorial incompleto más un testigo por cultivar, por lo que se trabajó con un modelo estadístico para cada variedad:

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_i + T_j + M_k + \xi_{ijk}$$

$\mu$ : media general

$B_i$ : efecto del i-ésimo bloque

$T_j$ : efecto del j-ésimo principio activo

$M_k$ : efecto del k-ésimo momento de aplicación

$\xi_{ijk}$ : error experimental

En el 2016 el experimento se realizó con 56 parcelas (unidades experimentales), de 5 m de longitud por 1,14 m de ancho, es decir que cada parcela abarcó una superficie de 5,7 m<sup>2</sup>, distanciadas entre sí a 0,5 m, distribuidas en 4 bloques incompletos al azar, con una distancia entre los mismos de 2 m, los cuales estaban formados por 14 parcelas cada uno, y se evaluaron 14 tratamientos diferentes (Cuadro No. 4). La densidad de siembra fue la misma que para el 2015.

Cuadro No. 4. Momento, principio activo y variedad según tratamiento evaluado en el año 2016.

<b>Variedad</b>	<b>Principio activo</b>	<b>Momento</b>	<b>Fecha de aplicación</b>
Fuste	Ninguno	Ninguno	Ninguna
	Carbendazim	Z61	6/10
	Tebuconazol	Z61	6/10
	Met. + epoxi.	Z61	6/10
	Carbendazim	Z61+Z65	6/10 y 16/10
	Tebuconazol	Z61+Z65	6/10 y 16/10
	Met. + epoxi.	Z61+Z65	6/10 y 16/10
Baguette 9	Ninguno	Ninguno	Ninguna
	Carbendazim	Z61	6/10
	Tebuconazol	Z61	6/10
	Met. + epoxi.	Z61	6/10
	Carbendazim	Z61+Z65	6/10 y 16/10

	Tebuconazol	Z61+Z65	6/10 y 16/10
	Met. + epoxi.	Z61+Z65	6/10 y 16/10

Para el análisis se utilizó el paquete estadístico InfoStat versión 2008. El diseño experimental del 2016 fue un DBCA con 14 tratamientos y 4 repeticiones y el diseño estadístico fue factorial completo más un testigo por cultivar, por lo que se trabajó con el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + \beta_i + C_j + T_k + M_l + (CTM)_{jkl} + \epsilon_{ijkl}$$

$\mu$ : media general

$B_i$ : efecto del  $i$ -ésimo (bloque)

$C_j$ : efecto del  $j$ -ésimo (cultivar)

$T_k$ : efecto del  $k$ -ésimo principio activo

$M_l$ : efecto del  $l$ -ésimo momento de aplicación

$(CTM)_{jkl}$ : efecto de la interacción entre  $j$ -ésimo (cultivar), el  $k$ -ésimo (principio activo) y  $l$ -ésimo (momento de aplicación)

$\epsilon_{ijkl}$ : error experimental

### 3.2 CARACTERIZACIÓN DE LOS CULTIVARES UTILIZADOS

Las variedades utilizadas fueron seleccionadas por su comportamiento diferencial frente a la FE (Cuadro No. 5). La variedad Baguette 9 tiene un alto potencial de rendimiento con susceptibilidad alta frente a la FE. Presenta una población óptima de 35 plantas/m. Además tiene alto peso de granos, característica fundamental para la concreción de su potencial de rendimiento (Hoffman et al., 2009).

Por su parte Fuste, presenta también alto potencial, pero es de susceptibilidad intermedia a baja para la enfermedad en estudio. Este es un cultivar de bajo macollaje con respuesta a la población por encima de 40 plantas/m, con óptimo de 45 plantas/m siendo la población el principal factor de ajuste responsable del cambio en el rendimiento (Hoffman et al., 2015). Ambas variedades son de ciclo medio.

Cuadro No. 5. Comportamiento sanitario de Fuste y Baguette 9.

Cultivar	MH	MA	FUS	RH	OIDIO	RT
Fuste	IA	IB	<b>IB</b>	BI	B	BI
Baguette 9	I	I	<b>A</b>	A	B	A

Nivel de infección: A- Alto, I- Intermedio, B- Bajo. MH: mancha de hoja, MA: mancha amarilla, FUS: *Fusarium*, RH: roya de la hoja, RT: roya del tallo.

.Fuente: INIA e INASE (2014).

### 3.3 MANEJO

Cuadro No. 6. Manejo del ensayo en relación al producto químico empleado y sus respectivas dosis, previo a la aplicación de los fungicidas evaluados.

Fecha	Producto	Dosis
3/08	Fertilizante (18/46/4-6-0)	100 kg/ha
15/08	Herbicida (Tronador)	13 g/ha
1/09	Fertilizante (18/46/4-6-0)	100 kg/ha
7/09	Herbicida (Axial)	800 cc/ha
14/09	Fungicida (Sephre max)	300 cc/ha

### 3.4 FUNGICIDAS UTILIZADOS

Se evaluaron tres fungicidas; el primero Carben 50 SC (Tampa) que contiene el principio activo carbendazim 50% perteneciente al grupo químico benzimidazol (Cuadro No. 7).

Cuadro No. 7. Características de carbendazim

<b>Principio activo</b>	<b>Carbendazim</b>
<b>Grupo químico</b>	Benzimidazol (SATA, 2016)
<b>Acción</b>	Preventiva o curativa (SATA, 2016)
<b>Modo de acción</b>	Sistémica Inhibidor de la formación de microtúbulos Impide la división celular Crea desorganización generalizada del citoplasma (SATA, 2016)
<b>Toxicidad</b>	Clase III (Poco peligroso) Baja en mamíferos, ligeramente tóxico en abejas, alta para lombrices (SATA, 2016)
<b>Solubilidad en agua</b>	Baja (SATA, 2016)
<b>Dosis recomendada</b>	500 cc/ha (SATA, 2016)
<b>Tiempo de espera</b>	35 días (SATA, 2016)
<b>Otras características</b>	Volátil, moderadamente móvil en agua. Tiende a acumularse en suelo o volatilizarse desde aguas (UH, 2016).
<b>Persistencia</b>	Poco persistente

También se evaluó el fungicida SwingPlus (BASF) compuesto por metconazol 27,5% + epoxiconazol 37,5%. Pertenece al grupo químico triazol (Cuadros No. 8 y No. 9).

Cuadro No. 8. Características de epoxiconazol

<b>Principio activo</b>	<b>Epoxiconazol</b>
<b>Grupo químico</b>	Triazol (SATA, 2016)
<b>Acción</b>	Preventiva o curativa (SATA, 2016)
<b>Modo de acción</b>	Sistémica Inhibidor de la demetilación del esterol Inhibe la biosíntesis del ergosterol Detiene el desarrollo de las hifas secundarias (SATA, 2016)
<b>Toxicidad</b>	Clase III (Ediciones Agrotécnicas, s.f.) Baja en mamíferos, moderadamente tóxico para las aves, abejas, lombrices y la mayoría de los organismos acuáticos (UH, 2016)
<b>Solubilidad en agua</b>	Baja (SATA, 2016)
<b>Dosis recomendada</b>	En mezcla con metconazol 1500 cc/ha
<b>Tiempo de espera</b>	42 días (Ediciones Agrotécnicas, s.f.).

<b>Otras caract.</b>	Relativamente volátil (SATA, 2016)
<b>Persistencia</b>	Es medianamente persistente (SATA, 2016)

Cuadro No. 9. Características de metconazol

<b>Principio activo</b>	<b>Metconazol</b>
<b>Grupo químico</b>	Triazol (SATA, 2016)
<b>Acción</b>	Preventiva o curativa (SATA, 2016)
<b>Modo de acción</b>	Inhibidor de la demetilación del esterol Inhibe la biosíntesis del ergosterol Detiene el desarrollo de las hifas secundarias (SATA, 2016)
<b>Toxicidad</b>	Clase III (UNA, 2016) Moderada en mamíferos, no tóxico en abejas. Moderada en lombrices (UNA, 2016)
<b>Solubilidad en agua</b>	Baja (UH, 2016)
<b>Dosis recomendada</b>	En mezcla con epoxiconazol 1500 cc/ha (SATA, 2016)
<b>Tiempo de espera</b>	35 días (Ediciones Agrotécnicas, s.f.).
<b>Otras caract.</b>	No volátil (UH, 2016). Poco móvil (UH, 2016)

<b>Persistencia</b>	Tiene extrema a mediana persistencia en el suelo y es más persistente en el agua (Ediciones Agrotécnicas, s.f.)
---------------------	---

El tercer fungicida evaluado fue Folicur (Bayer) que está compuesto por tebuconazol 25%, también perteneciente al grupo químico triazol (Cuadro No. 10).

Cuadro No. 10. Características de tebuconazol

<b>Principio activo</b>	<b>Tebuconazol</b>
<b>Grupo químico</b>	Triazol (UH, 2016)
<b>Acción</b>	Preventiva, curativa o erradicante (UH, 2016)
<b>Modo de acción</b>	Inhibidor de la demetilación del esterol Inhibe la biosíntesis del ergosterol Detiene el desarrollo de las hifas secundarias (SATA, 2016)
<b>Toxicidad</b>	Clase III (UH, 2016) Baja para abejas, moderado en aves, peces y lombrices (UH, 2016)
<b>Solubilidad en agua</b>	Baja (SATA, 2016)
<b>Dosis recomendada</b>	750 cc/ha (SATA, 2016)
<b>Tiempo de espera</b>	35 días (UH, 2016)
<b>Otras caract.</b>	No volátil (UH, 2016). Alta posibilidad de lixiviación (UH, 2016)

<b>Persistencia</b>	Persistencia moderada (UH, 2016)
---------------------	----------------------------------

Todas estas formulaciones comerciales fueron seleccionadas por ser los de mayor uso a nivel productivo en nuestro país y por ser los más recomendados para el control de FE en trigo (Díaz de Ackermann y Pereyra 2011, Pereyra 2013). Para conocer más de las características de éstos fungicidas (ver anexo Cuadros No. 11, No. 12, No. 13 y No. 14).

Los momentos de aplicación utilizados fueron los recomendados por INIA como los más eficientes (Díaz de Ackermann et al. 2002, Pereyra 2013, Pereyra y Acosta 2014):

- 1- a inicios de floración (estadio Z61)
- 2- en doble aplicación (Z61 + Z65)

En 2015 en la variedad Baguette 9, también se hizo una aplicación en Z65 sin haber realizado una aplicación previa en Z61.

A su vez para cada variedad se agregó un testigo sin fungicida para poder comparar las variables estudiadas.

Para poder realizar las aplicaciones cuando el cultivo estuviese en Z61 y Z65, se realizó un seguimiento a ambas variedades, y mediante estimación visual se le fue asignado a cada parcela un porcentaje de espigas con anteras expuestas y a su vez el porcentaje de floración que tenía cada parcela en cada visita. En el año 2015 la variedad Baguette 9 alcanzó el estadio Z61 una semana después que Fuste, en cambio en el 2016 alcanzaron dicho estadio en la misma fecha.

Se prepararon 2 l de caldo por cada fungicida, para que la pulverizadora no tuviera problemas de funcionamiento, y se calculó que eran necesarios 0.055 l de caldo para aplicar en cada parcela (5 m<sup>2</sup>) lo que equivale a 110 l/ha. Se midió el caudal, con agua, el mismo fue de 0,87 l/minuto. Se calculó la velocidad de aplicación la cual fue 3,8 seg/parcela, la cual corresponde a 1,32 m/s.

Las aplicaciones de los fungicidas nombrados en los Cuadros No.7, 8, 9 y 10 se realizaron con pulverizadora manual. Los picos utilizados en las aplicaciones fueron de doble abanico plano uniforme (TwinJet 060). Las aplicaciones fueron realizadas con pantallas laterales para minimizar el riesgo de contaminar las parcelas adyacentes mediante la deriva. Además, para disminuir el riesgo de producir deriva, se aplicó en

momentos donde la velocidad del viento fuera la menor posible, en el año 2015 en los cuatro momentos donde se aplicó la velocidad varió entre 3,1 y 6,4 km/h y en el año 2016 en los dos momentos de aplicación fue de 0,8 y 2,4 km/h.

### 3.5 DETERMINACIONES A CAMPO

#### 3.5.1 Espigas por parcela

Este parámetro fue estimado contando los tallos fértiles (con espigas) de cada parcela en un metro lineal representativo de la misma. El conteo se realizó dos veces en cada parcela y luego fue promediado.

#### 3.5.2 Lectura de fusariosis de la espiga

Se determinó la incidencia y severidad de FE a los 7 y 10 días post aplicación en Fuste y Baguette 9 respectivamente. La incidencia se estimó como número de espigas enfermas/total de espigas, mientras que la severidad se determinó a partir del número de espiguillas enfermas/total de espiguillas de la espiga evaluada.

Se calculó el índice de FE como el producto de la incidencia y severidad, de acuerdo con Schaafsma et al. (2006), esto equivale al porcentaje de granos infectados sobre el total de granos cosechados.

### 3.6 COSECHA

En el 2015 la cosecha se realizó el 7 de diciembre, y en el 2016 se cosechó el 22 de noviembre. Ambas se realizaron con una cosechadora autopropulsada marca Wintersteiger, disponible en la EEMAC. Los granos de cada parcela fueron almacenados en bolsas de papel previamente etiquetadas.

#### 3.6.1 Procesamiento post-cosecha

En el laboratorio, el grano cosechado de cada parcela fue limpiado con una sopladora, manteniendo una velocidad del viento tal que no volara grano que no fuera chuzo. Luego mediante un humidímetro se determinó porcentaje de humedad (% Hum.). Se pesó el grano total de cada bolsa para estimar rendimiento, sacándolo de la bolsa y poniéndolo en un recipiente tarado. Posteriormente se estimó el peso de mil granos (PMG) mediante el promedio que se generó con el conteo y peso de tres veces 100 granos.

Con esos datos se calculó el rendimiento, y fue corregido por humedad, teniendo en cuenta la merma por secado a la base 13,5% de humedad según las reglas del plan nacional de silos establecidas por MGAP. DGSSAA (2016).

Luego de cuantificados los parámetros anteriores, se colocó una muestra de cada parcela en frascos de plástico con tapa y se identificaron adecuadamente. Estas muestras se guardaron en una bolsa de nylon y se conservaron en freezer -20 °C. Las bolsas con el resto del grano de las parcelas se guardaron en un galpón para realizar detección de *Fusarium* en el grano.

### 3.7 DETERMINACIONES EN EL LABORATORIO

#### 3.7.1 Nivel de infección de *Fusarium* en grano

De los granos conservados en las bolsas de papel a temperatura ambiente, se tomó una muestra para determinar infección de *Fusarium* mediante la técnica de blotter test.

Para realizar esta técnica se partió de la desinfección superficial los granos de cada muestra con alcohol al 70% por 30 segundos, luego se enjuagaron por 30 segundos en agua destilada estéril en un vaso de bohemia y después se enjuagó nuevamente en otro vaso de bohemia (también con agua destilada estéril). Luego se colocaron las semillas sobre un papel absorbente y se dejaron secar unos minutos. Del total de semillas se seleccionaron 50 semillas al azar y se colocaron de forma uniforme en una caja de petri con algodón y papel de filtro esterilizado saturados de humedad, ya que previamente fue humedecido con agua destilada estéril.

Este procedimiento se realizó 4 veces por parcela, por lo que se analizó un total de 200 semillas/parcela. Luego de tener las placas de petri con las semillas distribuidas uniformemente, se incubaron en una cámara de crecimiento a 25 °C con un régimen de 12 hs. de luz por 24 hs., para obtener un pregerminado. Después de esto, se colocaron en un freezer -20 °C por 12 hs. para de ese modo matar el embrión de la semilla.

Terminada la etapa de freezer, se volvieron a colocar en la cámara de crecimiento, hasta completar 7 días desde la primera vez que se pusieron allí. Por último se los dejó 7 días más, bajo radiación UV. Después de realizado el procedimiento

anterior, se buscó con lupa binocular entre los distintos micelios de hongos, aquellos de color salmón o rosa-blancuecino, color que identifica a *Fusarium* tal como menciona Pereyra y Dill-Macky (2010). Luego de identificados los micelios con esta característica, se observó al microscopio para reconocer esporas de *Fusarium* que confirmaran su presencia y con ello se cuantificó la incidencia del mismo (No. de semillas infectadas en cada placa / 50, Figura No. 5).

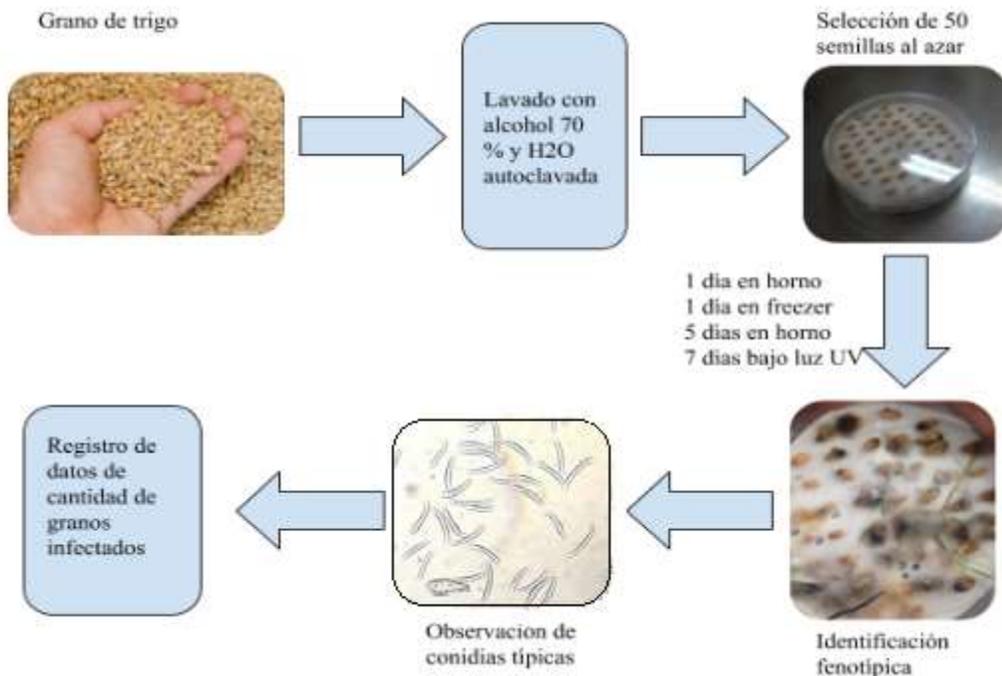


Figura No. 5. Procedimiento utilizado para la cuantificación de la infección de *Fusarium* en grano cosechado.

### 3.7.2 Técnicas instrumentales de análisis para la detección de residuos de fungicidas en grano de trigo

Las muestras conservadas en freezer, se molieron hasta obtener granulometría similar a harina con un molino universal (IKA M20) y luego se volvieron a colocar de forma individual en los recipientes de plástico.

Para la cuantificación de fungicida fue necesario ajustar un método adecuado de detección, por el cual los cuatro compuestos (carbendazim, tebuconazol, epoxiconazol y metconazol) fueran recuperados de acuerdo a los estándares requeridos por el documento DG-SANTE (2016). Se seleccionó aquel que presentó un porcentaje de recuperación (%Rec.) entre 70-120% y un porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD)  $\leq 20\%$  como indica la norma DG-SANTE (2016) lo que será explicado más adelante. Las metodologías fueron evaluadas mediante HPLC-QqQ-MS.

En los seis métodos evaluados, primero se comenzó pesando un trigo blanco en una balanza de precisión y se colocó en tubos de 50 ml. La DG-SANTE (2016) define a un blanco como una muestra o una porción u extracto de muestra que se sabe que no contiene niveles detectables de los analitos de interés. Luego en estos tubos se contaminó con soluciones madre de los pesticidas, el volumen y la concentración de la solución madre de pesticidas utilizada varió según la concentración de fungicidas que se quiso conseguir en la matriz, esto es explicado más adelante. También se adicionó agua ya que la matriz tiene bajo contenido de la misma.

Los solventes probados fueron acetonitrilo (ACN) y acetato de etilo (AcOEt) según el caso; el acetonitrilo es polar y el AcOEt es apolar. El ACN es un solvente caro y tóxico, pero la principal ventaja es que prácticamente no extrae componentes lipofílicos, que muchas veces son los principales interferentes a la hora de realizar un análisis.

En algunos métodos (3 y 5) que se detallarán en éste capítulo, se agitaron los tubos en un Orbital Shaker por una hora a 250 r.p.m. Se utilizaron las sales de salting-out que eliminan el agua. Estas eran pesadas antes de ser colocadas en el tubo donde se hidrata la muestra de trigo. Luego de este paso en los métodos 1, 2, 3, 4 y 5 se agitaron manualmente los tubos con las sales generando una reacción exotérmica. Luego de aquí se centrifugó a diferente velocidad y tiempo, según como lo indicaba el método.

El sobrenadante se guardó en viales de vidrio de 12 ml en el freezer si es que el método tenía el paso de freeze-out. La etapa de freezer luego de la extracción, se utilizó para precipitar compuestos lipídicos y ceras del extracto (Pareja, 2012).

Después de la etapa de freezer, se iban retirando del mismo los viales de 12 mL para ser filtrados inmediatamente. Se filtró mediante un embudo de vidrio con algodón y se pasó a otro vial de 12 ml.

Se pesaron las sales de purificación en una balanza analítica, a las que se les agregó una alícuota del sobrenadante ya filtrado (el volumen que se debe utilizar en cada caso, está especificado en cada uno de los métodos). Las sales utilizadas fueron: PSA, que es un intercambiador iónico débil que interacciona con ácidos grasos, azúcares y otros ácidos orgánicos presentes en la muestra mediante puentes de hidrógeno (Pareja, 2012); la sal C-18 que es adsorbente, retiene pigmentos lipídicos y otros lípidos (Pareja, 2012); el  $MgSO_4$  elimina el exceso de agua (Cromlamb, s.f.); el NaCl ayuda a controlar la polaridad favoreciendo la separación de fases (Fuentes et al., s.f.); las sales de citrato ( $Na_3$  citrato  $2H_2O$ ,  $Na_2H$  citrato  $1,5H_2O$  y  $Na_3$  citrato) se emplean para ajustar el pH a valores de 5,5 donde se extraen la mayoría de los componentes ácidos y básicos de la muestra (Fuentes et al., s.f.); el acetato de amonio y el sulfato de amonio  $(NH_4)_2SO_4$  se utilizan con el fin de mejorar el reparto de los pesticidas entre el agua y el solvente, dado que la sal compite con los pesticidas por solubilizarse en el agua y por ende los pesticidas se disuelven mejor en el solvente orgánico.<sup>1</sup>

Para agitar en esta etapa se utilizó un vórtex VM-10, el tiempo en que se agitaron los tubos varió según el método. Luego de este paso se centrifugó, el sobrenadante se filtró mediante una jeringa insertada en un filtro de  $0,45 \mu m$  directamente a un vial de 2 mL. Finalmente se inyecta en el HPLC-QqQ/MS.

---

<sup>1</sup> Pareja, 2017. Sales de amonio. Paysandú, Facultad de Agronomía. EEMAC (sin publicar).

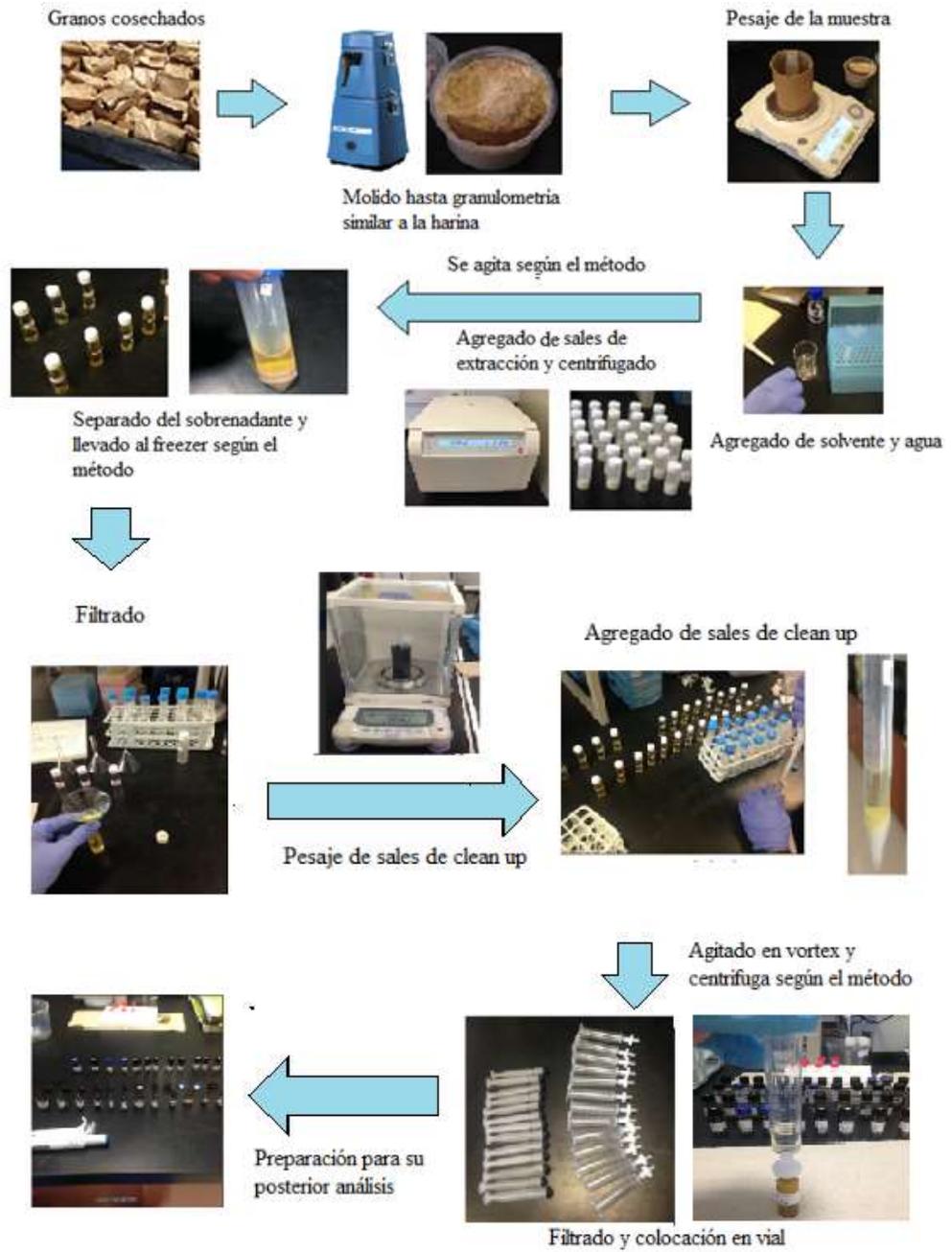


Figura No. 6. Esquema generalizado de los pasos del método QuEChERS.

Para la cuantificación se utilizó el equipo HPLC-QqQ/MS utilizado en el análisis de pesticidas (Figura No. 8). Este sistema está formado por dos cuadrupolos con una celda de colisión entre ellos (tercer cuadrupolo, Pareja, 2012).



Figura No. 7. Equipo utilizado HPLC-QqQ-MS.

Luego de la utilización de los materiales, algunos son descartados como los filtros o las jeringas o los tips de poco volumen y los demás deben seguir un protocolo de limpieza con agua y detergente, luego agua destilada y por último a los materiales de vidrio se les agregó acetona. Además los viales tienen su propio protocolo de limpieza que es más amplio.

#### 3.7.2.1 Ajuste de metodologías para la determinación de los fungicidas de interés en grano de trigo

Se evaluaron 6 métodos mediante la fortificación del trigo blanco, la misma consiste en el agregado de un volumen conocido de una solución que contiene los analitos en estudio en una determinada concentración, a una masa de muestra también conocida de forma que se conoce la concentración final de los pesticidas en esa muestra (Pareja, 2012).

Al trigo blanco en todos los métodos se le adicionaron 500  $\mu$ l de solución mix 1 mg/L para lograr una concentración de 100  $\mu$ g/kg. Se realizaron tres repeticiones por método y para la cuantificación de los residuos, se colocaron en el equipo junto a una

curva de calibración. Una curva de calibración (matrix matched) consiste en extractos de trigo blanco fortificados con distintas concentraciones de pesticidas: 10, 20, 100 y 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Para lograr una concentración de 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  se agregaron 500  $\mu\text{l}$  de solución 0,1 mg/L, para lograr una concentración de 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  se añaden 100  $\mu\text{l}$  de solución 1 mg/L, para lograr una concentración de 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  se añadieron 500  $\mu\text{l}$  de solución 1 mg/L y para lograr una concentración de 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$  se añadió 250  $\mu\text{l}$  de 5 mg/L.

### 3.7.3 Métodos evaluados

- Método 1

Se pesaron 5 g de muestra de trigo blanco (sin residuos detectables de pesticidas) en una balanza de precisión y se colocó en un tubo de plástico, se fortificó con el mix de pesticida previamente preparado, se dejó reposar 10 min en cámara de flujo con la tapa semi destapada de cada tubo. Luego se adicionaron 10 mL de agua destilada a cada tubo y se dejó 30 min en remojo sin agitación.

En la etapa de extracción se adicionaron 10 mL de ACN, luego se agitó vigorosamente cada tubo durante 1 min y se añadieron 4 g de  $\text{MgSO}_4$  anhidro, 1 g de NaCl, 0,5 g de  $\text{Na}_3$  citrato, 2  $\text{H}_2\text{O}$  y 0,5 g de  $\text{Na}_2\text{H}$  citrato. 1,5  $\text{H}_2\text{O}$  por tubo, estas son sales que se pesaron previamente en tubos de plástico adecuados. Luego se agitó vigorosamente durante 1 min lo que produce una reacción exotérmica y se centrifugó 3 min a 5000 r.p.m. Se separaron los sobrenadantes hacia viales de vidrio de 12 ml y se llevaron a freezer durante 12 horas (-18 °C) cubiertos con papel parafilm. Luego se filtraron a otro vial de 12 ml etiquetado respectivamente.

En la etapa de clean up se tomaron 6 mL del sobrenadante y se añadieron 150 mg de PSA y 900 mg de  $\text{MgSO}_4$  previamente pesadas en una balanza analítica. Se agitaron en el vórtex durante 30 segundos y se centrifugó 3 minutos a 5000 r.p.m. El sobrenadante se llevó utilizando una micropipeta a un vial de 1,5 ml a través de una jeringa insertada en un filtro de 0,45  $\mu\text{m}$ . Desde estos viales se toma una alícuota y se coloca en el HPLC-QqQ-MS para poder analizarlo.

- Método 2

Se pesaron 5 g de muestra de trigo blanco, en una balanza de precisión y se colocó en un tubo de plástico, se fortificó con el mix pesticida previamente preparado, se dejó reposar 10 min en cámara de flujo con la tapa semi-destapada de cada tubo. Luego

se adicionaron 10 mL de agua destilada a cada tubo y se dejó reposar nuevamente por 10 min en una cámara de flujo. Luego se le adicionaron 10 mL de ACN y se agitaron vigorosamente durante 1 minuto.

En la etapa de extracción se añadieron 4 g de  $\text{MgSO}_4$  anhidro + 1 g de acetato de amonio y se agitó vigorosamente durante 1 min lo que produce una reacción exotérmica. Se centrifugaron por 5 min a 3500 r.p.m en la centrífuga.

Para la etapa de clean up, se tomó una alícuota de 5 mL de cada tubo y se añade 750 mg de  $\text{MgSO}_4$ , 125 mg de PSA previamente pesadas en una balanza analítica y se agitaron en el vórtex durante 30 segundos, finalmente se centrifugaron por 5 min a 3500 rpm y el sobrenadante se llevó mediante una micropipeta a un vial de 1,5 ml a través de una jeringa insertada en un filtro. Desde estos viales se toma una alícuota y se coloca en el HPLC-QqQ-MS para ser analizados.

- Método 3

Se pesaron 5 g de muestra de trigo blanco en un tubo de plástico, se fortificaron igual que los métodos anteriores y se dejó reposar por 10 min en cámara de flujo con la tapa semi-destapada de cada tubo.

Para la etapa de remojo y extracción se adicionaron 10 mL de agua y después de reposar por 10 min se le adicionaron a cada tubo 10 mL de ACN. Luego se agitó por 1 hora en orbital shaker a 250 r.p.m (Stuart SSL1). Finalizado esto se añadieron 4 g de  $\text{MgSO}_4$  anhidro y 1 g de NaCl y se agitó por 1 min, luego se centrifugaron por 3 min a 5000 r.p.m en la centrífuga. Se separó el sobrenadante en viales de vidrio de 12 ml y se llevaron a freezer 12 horas (-18 °C) cubiertos con papel parafilm.

Para la etapa de clean up primero se filtraron las muestras hacia otros viales de 12 ml etiquetados, a través de embudos con algodón. De aquí se separaron 4 mL del sobrenadante y se añadieron 600 mg de PSA, 600 mg de  $\text{MgSO}_4$  y 200 mg de C18 previamente pesadas en una balanza analítica y se agitaron en el vórtex durante 30 segundos. Luego se centrifugaron por 3 min a 5000 r.p.m y el sobrenadante se llevó utilizando una micropipeta a un vial de 1,5 ml a través de una jeringa insertada en un filtro. Desde estos viales se toma una alícuota y se coloca en el HPLC-QqQ-MS.

- Método 4

En este método se pesaron 5 g de muestra de trigo blanco fortificada como los anteriores y se dejó reposar por 10 min en una cámara de flujo con la tapa semi-destapada. Se adicionaron 10 mL de agua destilada en cada tubo y se dejó 30 minutos en remojo sin agitación.

Para la extracción se adicionaron 10 mL de ACN y se agitaron vigorosamente durante 1 minuto. Luego se añadieron 4 g de  $MgSO_4$  anhidro, 1 g de NaCl, 0,5 g de  $Na_3$  citrato. $H_2O$  y 0,5 g de  $Na_2H$  citrato.1,5  $H_2O$  y se volvió a agitar vigorosamente durante 1 min. Para terminar con esta etapa se centrifugó durante 3 minutos a 5000 r.p.m.

En la etapa de clean up se separaron 6 mL del sobrenadante y se le añadieron 150 mg de PSA, 900 mg de  $MgSO_4$  y 150 mg C-18 previamente pesadas en una balanza analítica. Luego se agitó en el vórtex durante 30 segundos y se centrifugó por 3 min a 5000 rpm. El sobrenadante se llevó mediante una micropipeta a un vial de 1,5 ml a través de una jeringa insertada en un filtro. Desde estos viales se toma una alícuota y se coloca en el HPLC-QqQ-MS.

- Método 5

En este método se pesaron 5 g de muestra fortificada como en los métodos anteriores; en la etapa de remojo y extracción se agregaron 10 mL  $H_2O$  destilada y se esperaron 10 min, luego se agregaron 10 mL ACN por tubo y se agitó 1 h en orbital shaker 250 r.p.m (Stuart SSL1). Luego se añadieron 4 g  $MgSO_4$  y 2 g  $(NH_4)_2SO_4$ , se volvió a agitar durante 1 min y se centrifugó a 5000 rpm por 3 min. Luego se separó el sobrenadante en viales de vidrio de 12 ml y se llevó al freezer durante 12 hs. a  $-18\text{ }^\circ\text{C}$ . Luego se filtraron hacia otros viales de 12 ml etiquetados.

En la etapa de clean-up se tomaron 4 mL del sobrenadante con una pipeta y se le agregó 600 mg PSA, 600 mg  $MgSO_4$  y 200 mg C-18 previamente pesadas en una balanza anaítica. Se agitaron con vórtex durante 30 segundos y se centrifugaron a 5000 r.p.m por 3 min. Luego se filtraron con una jeringa injertada en un filtro y se llevó mediante una micropipeta a un vial de 1,5 ml. Desde estos viales se toma una alícuota y se coloca en el HPLC-QqQ-MS para analizarlo.

- Método 6

En este método se pesaron 10 g de trigo blanco fortificado y se le añadieron 10 mL H<sub>2</sub>O, se lo dejó reposar por 10 min en una cámara de flujo. Luego se añadieron 10 mL AcOEt y se agitó durante 9 min en ultrasonido a 375W, luego se colocó en un freezer a -71 °C por 30 min y se filtrar con embudos con algodón.

En la etapa de clean-up se agregaron al sobrenadante 250 mg C-18 y 300 mg MgSO<sub>4</sub> y se agitó con vórtex 30 segundos. Luego se centrifugó a 5000 r.p.m por 3 min y el sobrenadante se llevó mediante una micropipeta a un vial de 1,5 ml a través de una jeringa insertada en un filtro. Desde estos viales se toma una alícuota y se coloca en el HPLC-QqQ-MS.

### 3.7.3.1 Validación de métodos analíticos

La exactitud se midió como veracidad, es decir en función del %Rec. obtenida de los ensayos de recuperación. El nivel de aceptación elegido para este parámetro fue una recuperación porcentual entre 70 y 120% (DG-SANTE, 2016). Para este rango de recuperaciones los valores de residuos obtenidos a partir de las muestras problema no deben ser ajustados (Strada, 2014).

La precisión se midió a través de la repetitividad como %RSD. El criterio de aceptación elegido en este caso para la técnica de QuEChERS fue que los valores de %RSD fueran menores o iguales a 20% como establece el documento (DG-SANTE, 2016).

En los métodos en los cuales la exactitud y la precisión estaban dentro del rango admitido se evaluó la linealidad, esto se realizó en cada uno de los compuestos de interés a partir de la curvas de calibración en matriz (matrix-matched) y en solvente, que fueron obtenidas con soluciones de los pesticidas de interés. A partir de los datos de áreas obtenidos y con la ayuda del programa Microsoft® Excel se graficó el área en función de concentración, para el ión detectado con mayor intensidad en ese fungicida. Se obtuvieron comportamientos lineales y se calculó el coeficiente de correlación ( $R^2$ ). El parámetro de aceptación según DG-SANTE (2016) fueron valores del  $R^2$  superiores a 0,99 e inspección visual.

En estos métodos también se evaluó el efecto matriz (EM), para esto se evaluaron distintas concentraciones de los fungicidas de interés en solvente y en matriz,

y se graficaron las áreas debajo de la curva de intensidad detectada por el equipo HPLC-QqQ-MS en función de concentración de cada fungicida. Así se obtuvo una curva en solvente y otra en matriz para cada fungicida y con sus pendientes se calculó  $((\text{pendiente en matriz} / \text{pendiente en solvente}) - 1) * 100$ . Si el valor absoluto de este cálculo estaba comprendido entre el rango de 0 a 20 se considera que no hay EM, si el valor absoluto está en el rango de 20 a 50 se considera que hay EM moderado y si es mayor a 50 se considera que es EM alto. Así mismo si el EM es positivo es aumento de la señal, mientras que si el valor es negativo se considera que ese fungicida sufre supresión de la señal.

También se evaluaron los valores de LOD y LOQ, para esto se tomaron en cuenta las definiciones de la (DG-SANTE, 2016).

Para la determinación de la reproducibilidad se fortificaron 5 tubos a 100 µg/kg y 5 tubos a 500 µg/kg, para lograr esta última concentración se agregaron 500 µl de 5 mg/L; además de tres blancos. Esto lo realizaron dos operarios independientemente. Además se evaluaron 10 tubos con concentración 20 µg/kg es decir que al trigo blanco se le colocaron 100 µl de solución 1 mg/L y dos testigos, es decir que no se les aplicó fungicida. A los 10 tubos de 20 µg/kg los realizaron 5 tubos un operario y 5 tubos otro operario.

### 3.7.3.2 Obtención de resultados

Para poder extraer los datos generados por el HPLC-QqQ-MS se utilizó el programa Analyst Data (Analyst 1.5.1, 2010). Este programa arroja el resultado en forma de cromatograma. Cada cromatograma indica en qué intensidad y en qué tiempo fue detectado determinado principio activo. Para la confirmación de la presencia de un determinado principio activo dicho cromatograma debe presentar al menos dos transiciones DG-SANTE (2016). Se observaron ciertos patrones en las intensidades y tiempo en que fueron detectados los distintos principios activos (Cuadro No. 22). Luego de integrar las gráficas se pasan los datos a Microsoft Excel y se trabaja con los datos numéricos.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 CARACTERIZACIÓN CLIMÁTICA DE LOS AÑOS 2015-2016.

Para el período comprendido entre julio-diciembre, según datos tomados de la estación meteorológica de EEMAC, Paysandú; el año 2015 se presentó más lluvioso que el promedio histórico. A pesar de que el mes de julio fue seco, en los meses de agosto y diciembre las precipitaciones superaron los 250 mm (Figura No. 9). En cuanto a las temperaturas, en agosto se registraron mayores temperaturas medias que el promedio histórico, igualándose en setiembre y tornándose algo más frío en octubre.

Por su parte, en el 2016 las precipitaciones fueron similares al promedio histórico, al igual que la temperatura (Figura No. 9).

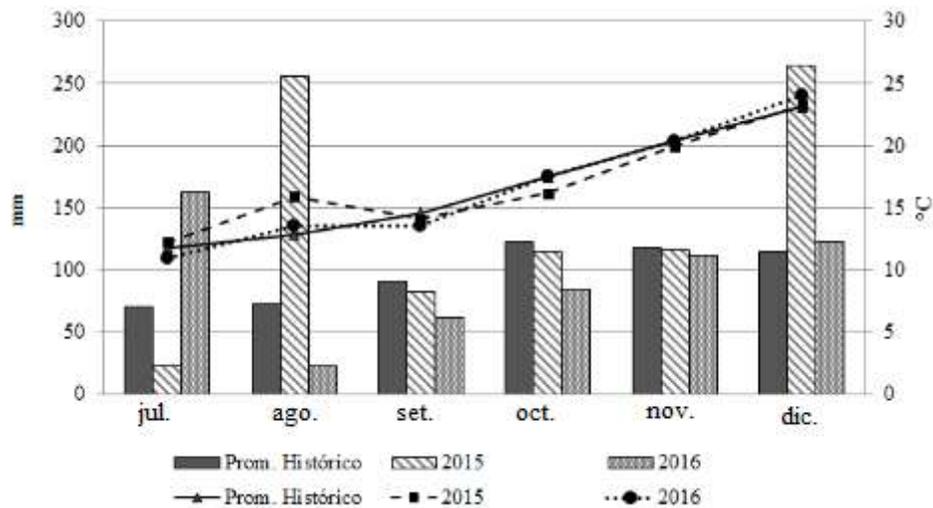


Figura No. 8. Temperatura promedio y precipitación mensual acumulada para cada año de experimentación, y para el promedio histórico (período 2002-2014).

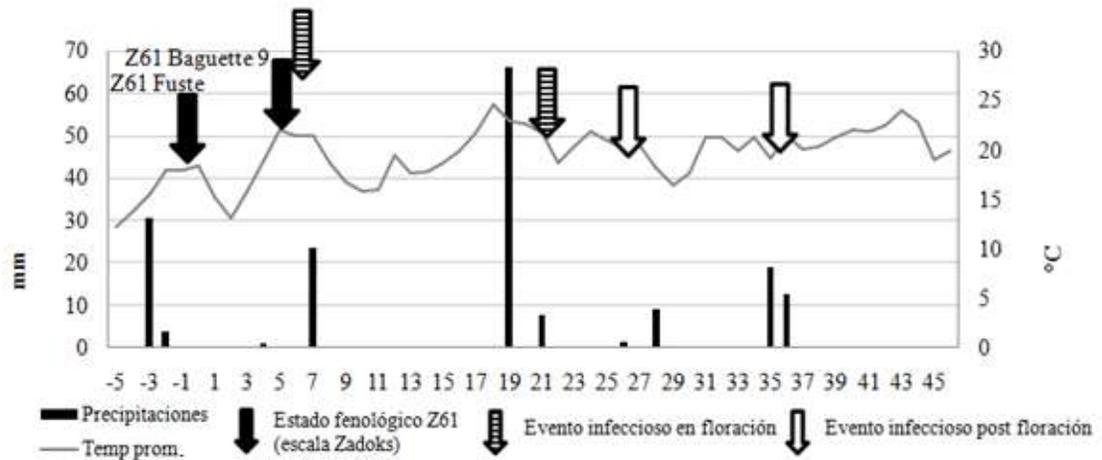


Figura No. 9. Precipitación diaria y temperatura promedio diaria ocurridas durante el período transcurrido entre cinco días antes de Z61 del cv. Fuste, y la cosecha de ambas variedades en el año 2015.

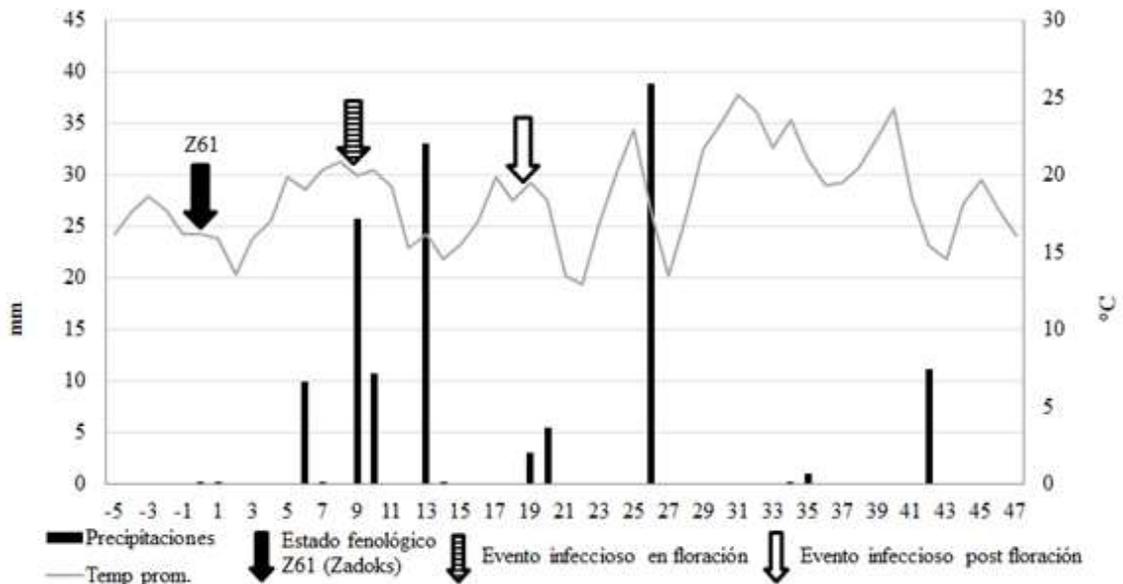


Figura No. 10. Precipitación diaria y temperatura promedio diaria ocurridas durante el período transcurrido entre cinco días antes de Z61 (ambos cultivares) y la cosecha de ambas variedades en el año 2016.

Teniendo en cuenta que el largo de floración es aproximadamente 15 días (Mazzilli et al., 2011), en 2015 se dio en el período mencionado, un evento de infección

de fusariosis de la espiga para Fuste y dos para Baguette 9, basándose en la definición de “evento infeccioso” establecida por Moschini y Fortugno (1996), que corresponde a la ocurrencia de precipitación (>0.2 mm) con HR mayor a 81%, al día siguiente HR mayor a 78% (con la presencia de anteras expuestas) y sin limitantes de temperatura en ambos días. En el 2016, teniendo en cuenta el mismo período, se dio un evento de infección para ambas variedades (Figuras No. 10 y No. 11). Los eventos infecciosos ocurridos durante la floración son los que determinan mayor probabilidad de infección por *Fusarium*, sin embargo, aquellos eventos que ocurren después (durante el llenado de grano) también pueden generar infección (Díaz de Ackermann et al., 2002), por lo cual es importante analizar la ocurrencia de condiciones favorables hasta la cosecha.

Si se compara el 2015 y 2016 con el año 2002, año en que ocurrió una severa epifitía, se observa que en este último ocurrieron numerosos eventos de infección a lo largo del ciclo, lo cual resultó en niveles epifíticos de la enfermedad (Figura No. 12).

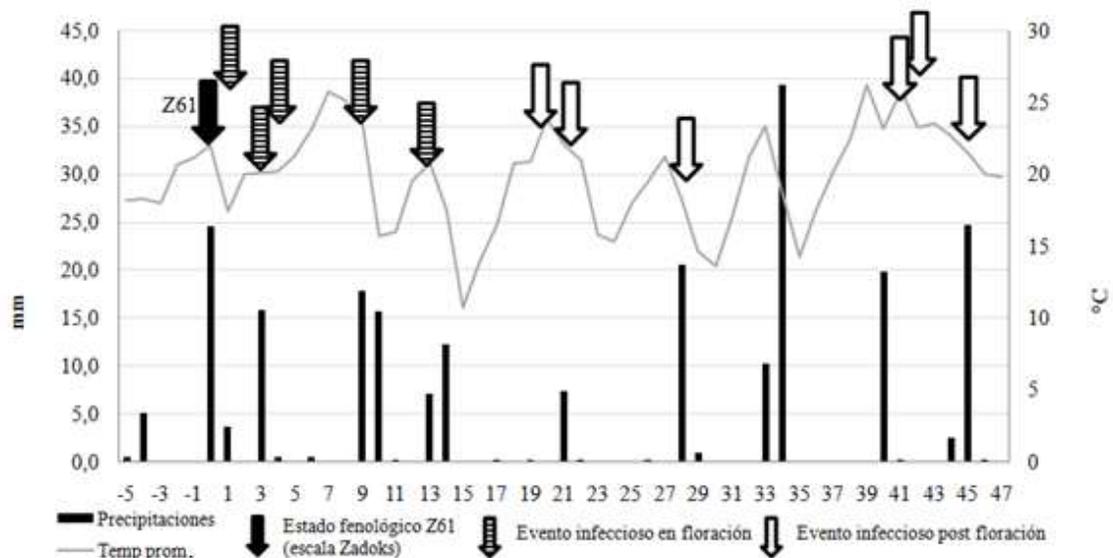


Figura No. 11. Precipitación diaria y temperatura promedio diaria ocurridas en el año 2002, en el período transcurrido entre cinco días antes de Z61 y la cosecha tomando como referencia el ciclo del cultivo en el 2016.

Los pronósticos de DON emitidos por INIA mediante el modelo DONCast (INIA. GRAS e INUMET, 2013) en el año 2015 pronosticaron concentraciones de 1,2 ppm para la fecha de espigazón de Fuste y entre 0,4-0,8 ppm para el caso de Baguette 9. En el 2016 se pronosticaron 0 ppm (Figura No. 13).

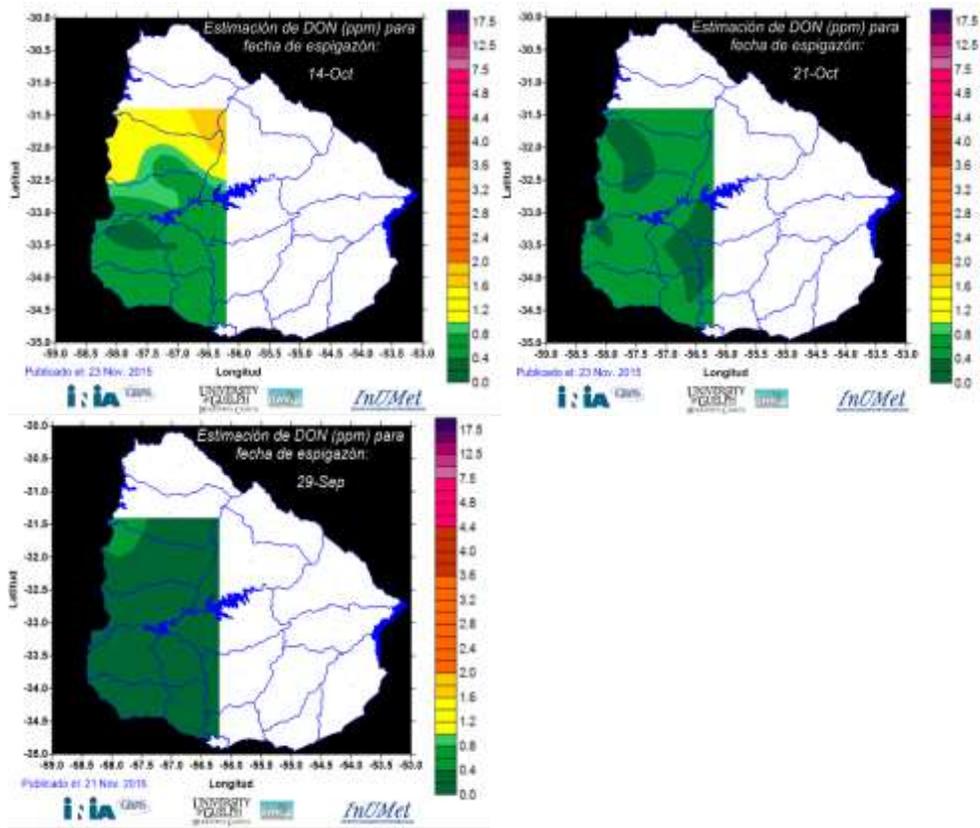


Figura No. 12. Pronóstico de DON para los años 2015 (arriba: izquierda Fuste, derecha Baguette 9) y 2016 (abajo) emitidos por DONCast.  
Fuente: INIA. GRAS (s.f.).

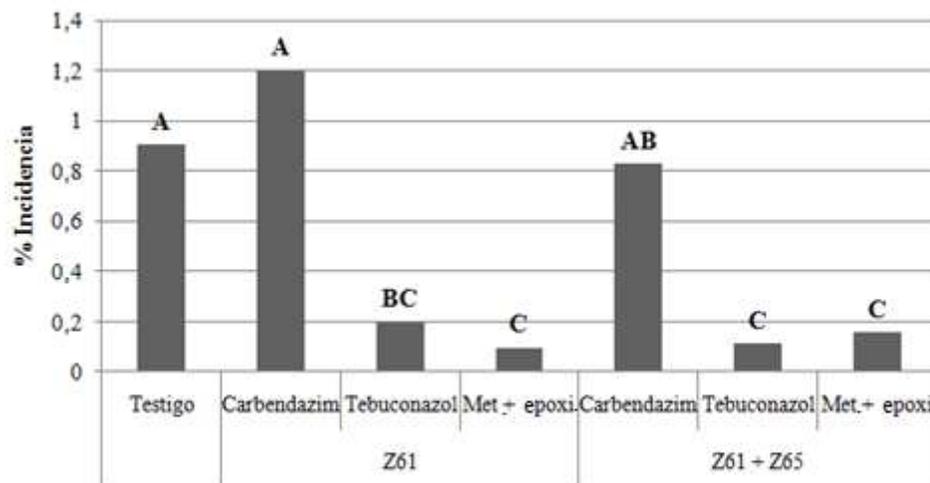
Los máximos valores de enfermedad obtenidos en 2015 fueron en Baguette 9 1,5% incidencia y 56% severidad, y para Fuste 1,6% y 53% respectivamente. En 2016 en Baguette 9 fueron 0.78% incidencia y 36% severidad, y en Fuste 0,17% y 37% respectivamente.

## 4.2 EXPERIMENTO 2015

### 4.2.1 Incidencia

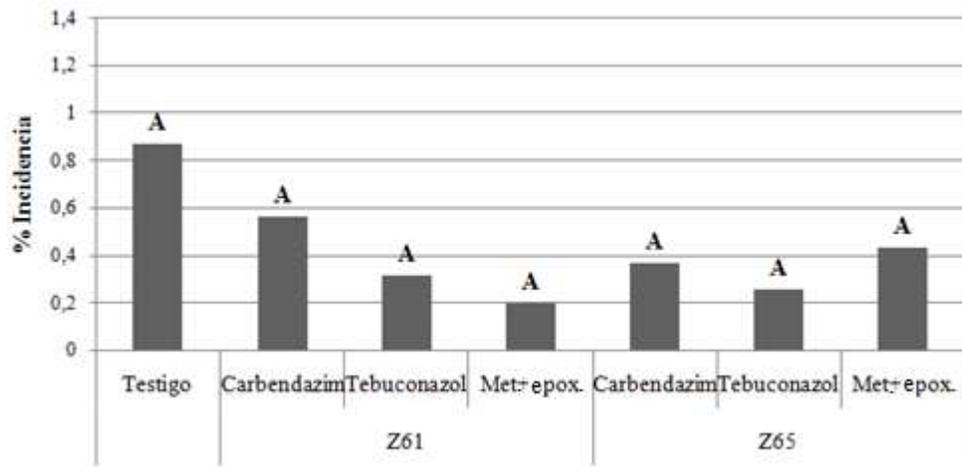
Los niveles de incidencia fueron relativamente bajos, se encontraron porcentajes de incidencia en el rango de 0% y 1,6%.

Al analizar el efecto del tratamiento en el cultivar Fuste, carbendazim no logró reducir los niveles de incidencia de FE, mientras que tebuconazol y la mezcla de metconazol con epoxiconazol redujeron los niveles de incidencia ya sea aplicados en forma simple o doble, obteniendo niveles de infección inferiores a los obtenidos en el testigo sin fungicidas (Figura No. 14). En cambio, en el cultivar Baguette 9, no hubo efecto significativo del tratamiento sobre el nivel de enfermedad (Figura No. 15).



Barras con letras distintas difieren significativamente entre sí, Tukey ( $P < 0.05$ ), CV: 54,6 %.

Figura No. 13. Porcentaje de incidencia según tratamiento para la variedad Fuste.



No hubo efecto significativo del tratamiento ( $p= 0,0613$ , CV: 67,5%).

Figura No. 14. Porcentaje de incidencia según tratamiento para la variedad Baguette 9.

#### 4.2.2 Severidad

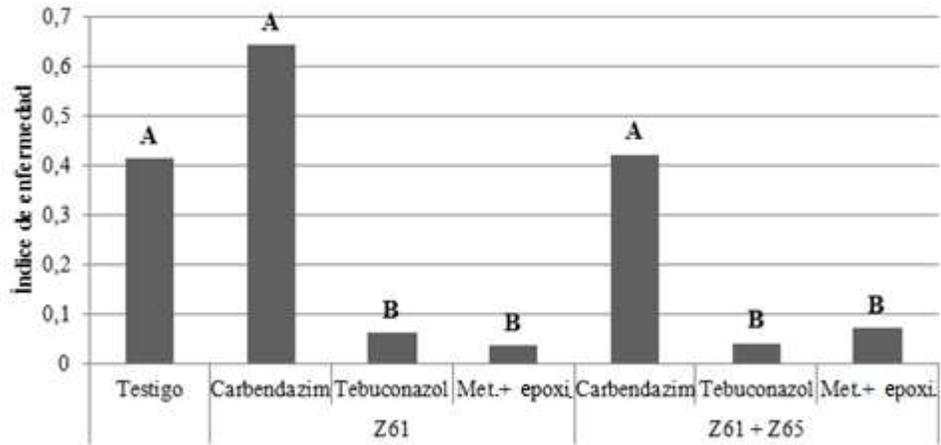
No hubo efecto del tratamiento sobre la severidad de la enfermedad ni para Fuste ( $p= 0,1773$ , CV: 33%) ni para Baguette 9 ( $p= 0,4137$ , CV: 34,7%, Cuadro No. 11).

Cuadro No. 11. Porcentaje promedio de severidad según tratamiento para ambas variedades.

Tratamiento		Fuste	Baguette 9
Testigo		45,5	42,7
Z61	Carbendazim	54	34
	Tebuconazol	36,5	60,2
	Met. + epoxi.	27,7	50
Z61+Z65	Carbendazim	50,7	-
	Tebuconazol	53,7	-
	Met. + epoxi.	48	-
Z65	Carbendazim	-	57,7
	Tebuconazol	-	51,2
	Met. + epoxi.	-	49,5

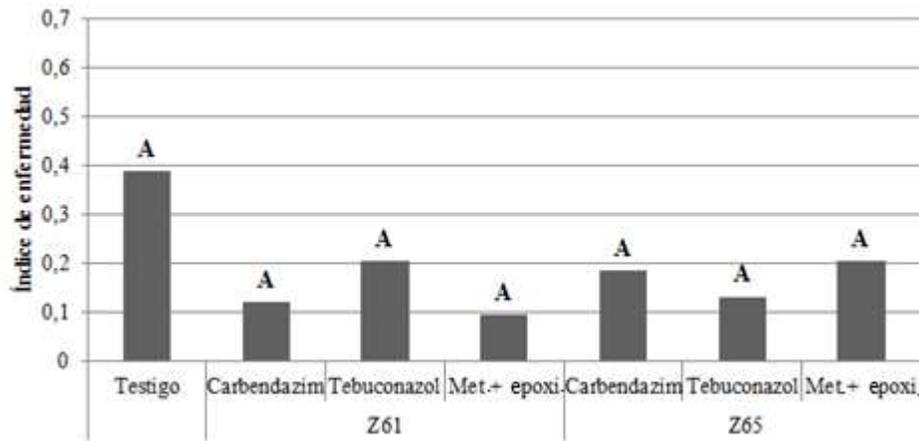
#### 4.2.3 Índice de la enfermedad

En el cv. Fuste, carbendazim no logró reducir el índice de FE respecto al testigo, en cambio tebuconazol y la mezcla de metconazol y epoxiconazol aplicados en Z61 o en doble aplicación (Z61 + Z65), lograron reducir el nivel de enfermedad en comparación con el testigo (Figura No. 16). En Baguette 9, no hubo efecto significativo del tratamiento sobre el índice de FE, donde todos presentaron similar índice al observado en el testigo sin fungicida (Figura No. 17).



Barras con letras distintas difieren entre sí. Tukey ( $P < 0.05$ ), CV: 56,4%.

Figura No. 15. Índice de enfermedad según tratamiento para la variedad Fuste.



( $P = 0,1011$ , CV: 70,6%).

Figura No. 16. Índice de enfermedad según tratamiento para la variedad Baguette 9.

#### 4.2.3.1 Nivel de infección de *Fusarium* en grano

Los resultados de la incubación en el laboratorio coincidieron con lo observado a campo, donde sólo se encontraron eventos puntuales de infección. No hubo diferencias entre testigos y los demás tratamientos; se observa que en el testigo de Baguette 9 la infección fue 1% y en Fuste fue 0%. Los demás tratamientos no presentaron infección, salvo la aplicación temprana de carbendazim en Fuste; doble aplicación de metconazol + epoxiconazol en Fuste y aplicación tardía de epoxiconazol + metconazol en Baguette 9 los cuales dieron una incidencia del 1% (Figuras No. 18 y No. 19).

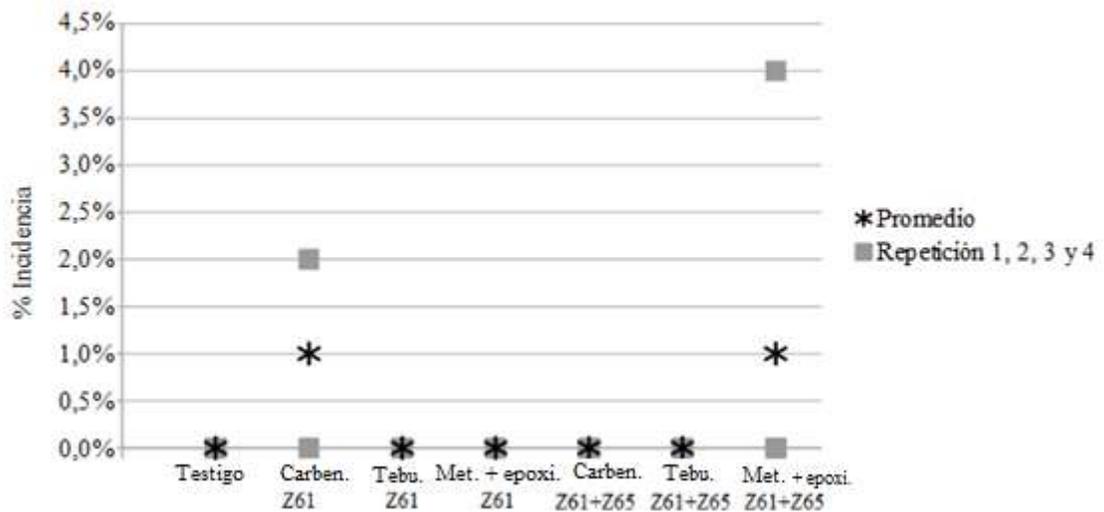


Figura No. 17. Porcentaje de granos infectados por *Fusarium* determinado en laboratorio, en muestras de Fuste, 2015.

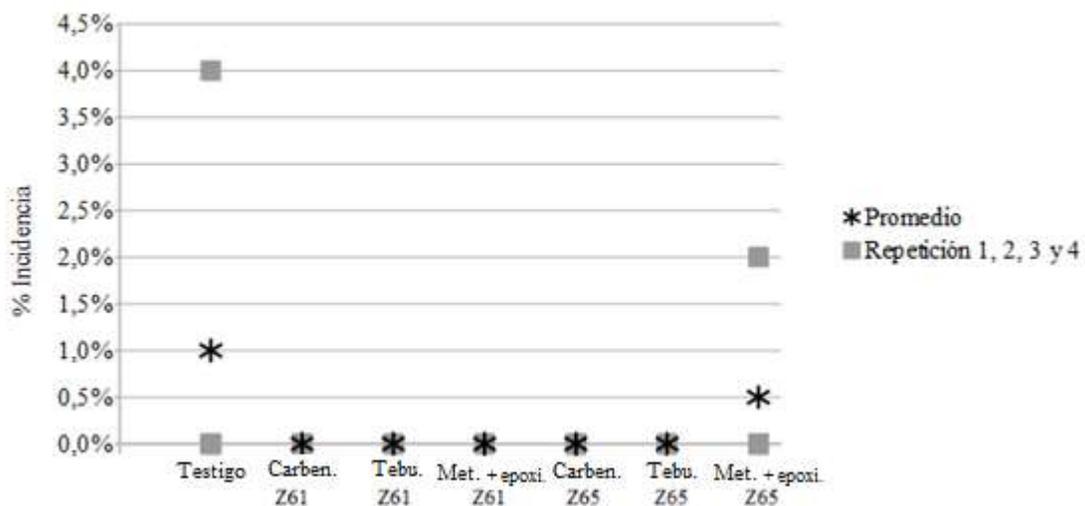
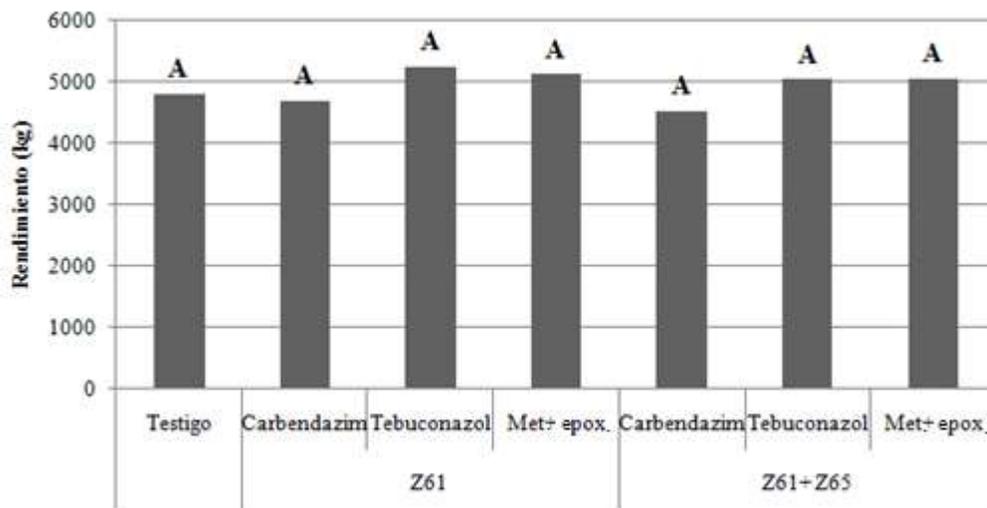


Figura No. 18. Porcentaje de granos infectados por *Fusarium* determinado en laboratorio, en muestras de Baguette 9, 2015.

#### 4.2.4 Rendimiento

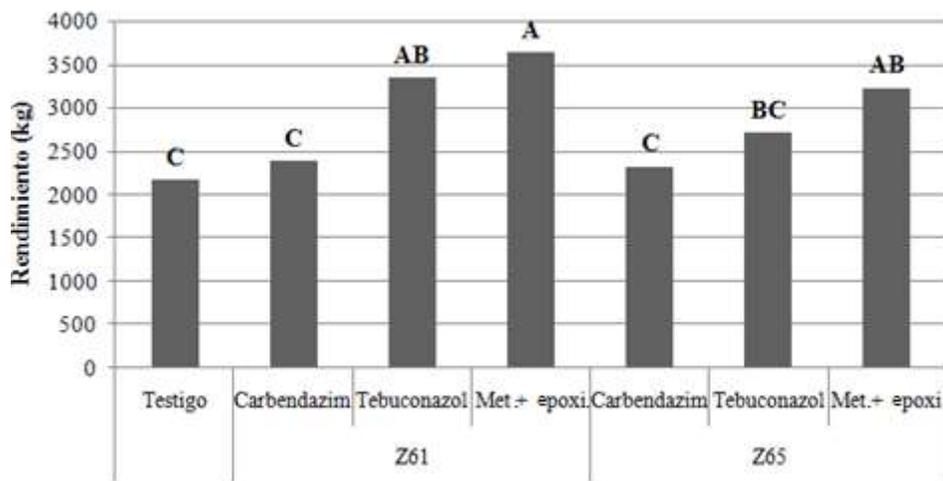
No se observó efecto significativo del tratamiento sobre el rendimiento del cultivar Fuste (Figura No. 20).



( $p=0,3813$ ; CV: 9,8%).

Figura No. 19. Rendimiento en grano según tratamiento para la variedad Fuste.

Por el contrario, en Baguette 9, hubo efecto significativo del tratamiento, donde tebuconazol aplicado en Z61 y la mezcla de metconazol y epoxiconazol aplicada en Z61 o en Z65, presentaron rendimientos significativamente mayores al testigo sin fungicida, mientras que carbendazim aplicado en Z61 o Z65 y tebuconazol en Z65 no difirieron del testigo sin fungicida (Figura No. 21).

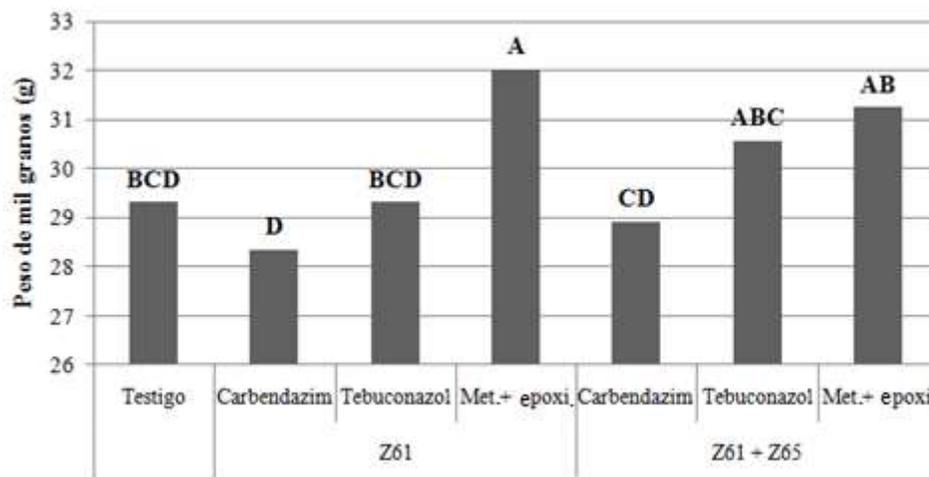


Barras con letras distintas difieren entre sí, Tukey ( $P<0.05$ ), CV: 11,7%.

Figura No. 20. Rendimiento en grano según tratamiento para la variedad Baguette 9.

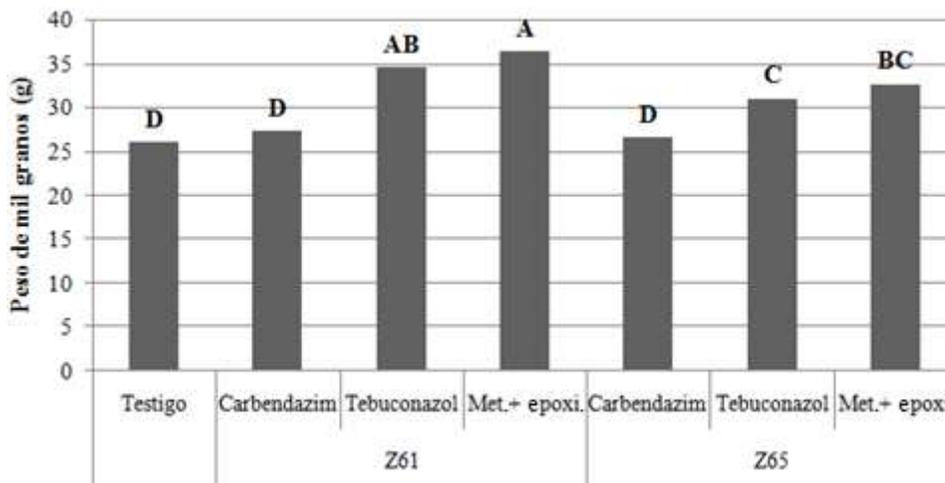
#### 4.2.5 Peso del grano

La mezcla de metconazol + epoxiconazol en aplicación Z61, resultó en un mayor PMG respecto al testigo sin aplicación, en el cultivar Fuste. El resto de los tratamientos no difirieron del testigo (Figura No. 22). En Baguette 9 las aplicaciones en Z61 y Z61+Z65 de carbendazim no aumentaron el PMG respecto al testigo, mientras que los demás tratamientos lograron PMG mayores que el testigo, siendo las aplicaciones de tebuconazol o la mezcla de metconazol + epoxiconazol en Z61 los tratamientos que presentaron mayor PMG (Figura No. 23).



Barras con letras distintas difieren entre sí, Tukey ( $P < 0.05$ ), CV: 2,9%.

Figura No. 21. Peso de mil granos según tratamiento para la variedad Fuste.



Barras con letras distintas difieren entre sí, Tukey ( $P < 0.05$ ), CV: 4,1%.

Figura No. 22. Peso de mil granos según tratamiento para la variedad Baguette

9.

#### 4.2.6 Análisis comparativo del grupo químico del fungicida y el momento de aplicación

En el año 2015 el análisis por contrastes indica un efecto significativo de la aplicación de fungicidas sobre la incidencia en Baguette 9, no habiendo diferencias entre

los grupos químicos evaluados, ni entre momentos de aplicación. De acuerdo al análisis por contrastes, ni la aplicación de fungicidas, ni el grupo químico, ni el momento de aplicación tuvieron efecto significativo sobre la severidad en este cultivar (ver anexo Cuadros No. 7 y No. 8).

A su vez, tanto el rendimiento como el PMG fue mayor cuando se aplicó el fungicida en relación al testigo, cuando se utilizaron triazoles en relación a los benzimidazoles, y cuando las aplicaciones se realizaron en Z61 en relación a Z65 (Cuadro No. 12).

Para Fuste el porcentaje de incidencia fue afectado por la aplicación de fungicida. No se generaron diferencias al realizar 1 o 2 aplicaciones, y sí hubieron diferencias entre aplicar benzimidazoles o triazoles. En cuanto a la severidad, ninguno de los contrastes analizados fue significativo, es decir no se generan diferencias aplicando o no fungicidas, ni entre principios activos ni entre momentos. Tanto para PMG como para rendimiento, sólo se observó diferencias significativas entre las aplicaciones de benzimidazoles y triazoles (Cuadro No. 13).

Cuadro No. 12. Análisis por contrastes ortogonales del efecto del fungicida, del grupo químico y del momento de aplicación, para el cultivar Baguette 9 en 2015.

<b>BAGUETTE 9</b>						
Contrastes	Aplicación		Diferentes P.A. aplicados		Momento de aplicación	
Variables	Con	Sin	Benzimidazol	Triazol	En Z61	En Z65
<b>PMG (g)</b>	31,4 A	26,1 B	26,9 B	33,6 A	32,7 A	30,1 B
<b>Rend. (kg)</b>	2937 A	2164 B	2354 B	3229 A	3123 A	2751 B
<b>%Inc.</b>	0,35 A	0,87 B	0,46 A	0,30 A	0,36 A	0,35 A

<b>%Sev.</b>	50,5 A	42,8 A	45,9 A	52,8 A	48,1 A	52,8 A
<b>Índice de enfermedad</b>	0,20 A	0,39 B	0,15 A	0,16 A	0,14 A	0,17 A

Cuadro No. 13. Análisis por contrastes ortogonales del efecto del fungicida, del grupo químico y del momento de aplicación, para el cultivar Fuste en 2015.

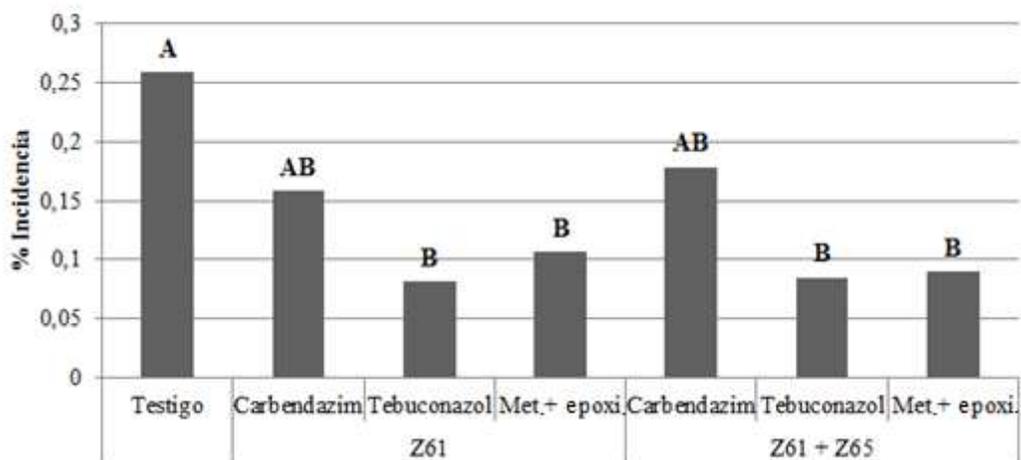
<b>FUSTE</b>						
Contrastes	Aplicación		Diferentes P.A. aplicados		Momento de aplicación	
Variables	Con	Sin	Benzimidazol	Triazol	En Z61	En Z61 + Z65
<b>PMG (g)</b>	30,1 A	29,3 A	28,6 B	30,8 A	29,9 A	30,3 A
<b>Rend. (kg)</b>	4955 A	4814 A	4619 B	5123 A	5031 A	4879 A
<b>%Inc.</b>	0,43 A	0,90 B	1,01 B	0,14 A	0,50 A	0,37 A
<b>%Sev.</b>	45,1 A	45,5 A	52,4 A	41,5 A	39,4 A	50,8 A
<b>Índice de enfermedad</b>	0,21 A	0,41 B	0,54 B	0,05 A	0,06 A	0,18 A

### 4.3 EXPERIMENTO 2016

#### 4.3.1 Incidencia

Los niveles de incidencia fueron relativamente bajos, se encontraron porcentajes de incidencia en el rango de 0% y 0,78%.

Las aplicaciones de tebuconazol tanto en Z61 como en Z61 + Z65 y mezcla de metconazol y epoxiconazol aplicado en Z61 y Z65, redujeron significativamente el % de incidencia en Baguette 9 si se compara con el testigo; pero con estos mismos tratamientos en Fuste, no se obtuvo menor porcentaje de incidencia que el testigo (Figura No. 24).

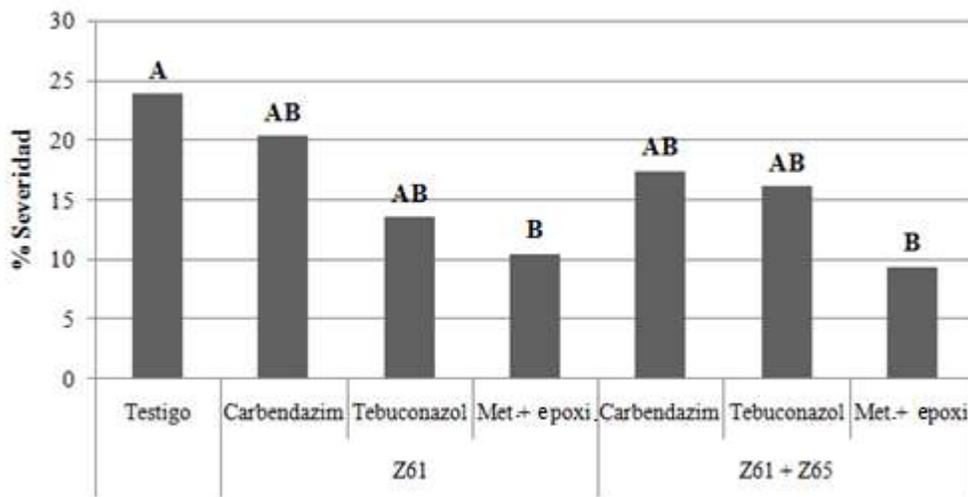


Tukey (P<0.05), CV: 60,3%.

Figura No. 23. Porcentaje de incidencia según tratamiento para ambas variedades.

#### 4.3.2 Severidad

El porcentaje de severidad se encontró en el rango de 0% y 36%. Al analizar esta variable se observa que no hubo interacción variedad\*tratamiento. La mezcla de metconazol y epoxiconazol aplicada en Z61 o en Z61 y Z65 redujo los niveles de severidad en forma significativa en relación al testigo (Figura No. 25).

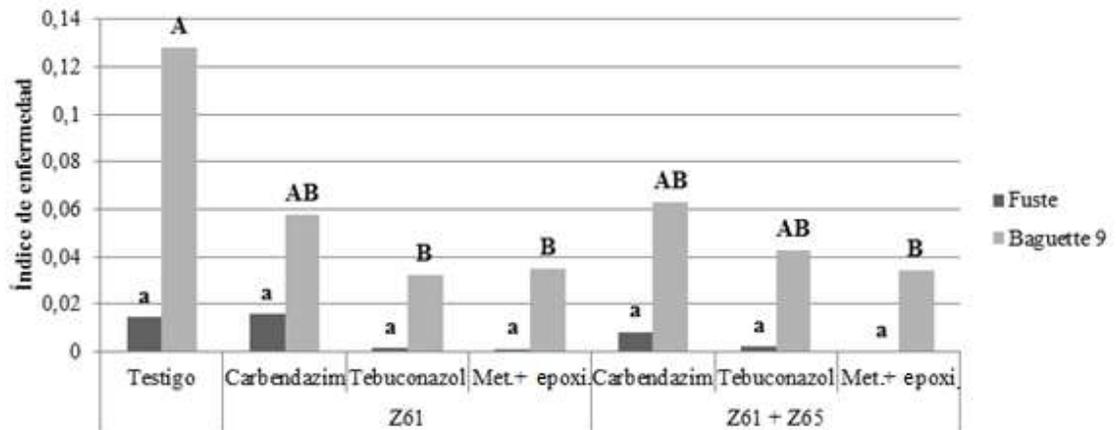


Barras con letras distintas difieren entre sí. Tukey ( $P < 0.10$ ), CV: 60%.

Figura No. 24. Porcentaje de severidad según tratamiento para ambas variedades.

#### 4.3.3 Índice de la enfermedad

Se consideró interacción significativa variedad\*tratamiento ( $p = 0,06$ ). En Baguette 9 el tratamiento tuvo efecto significativo, reduciendo el índice el tratamiento tebuconazol en Z61 y la mezcla de triazoles aplicados en Z61 y Z61+Z65, en comparación con el testigo. Los tratamientos con carbendazim no difirieron del testigo (Figura No. 26). En Fuste no hay efecto significativo del tratamiento.

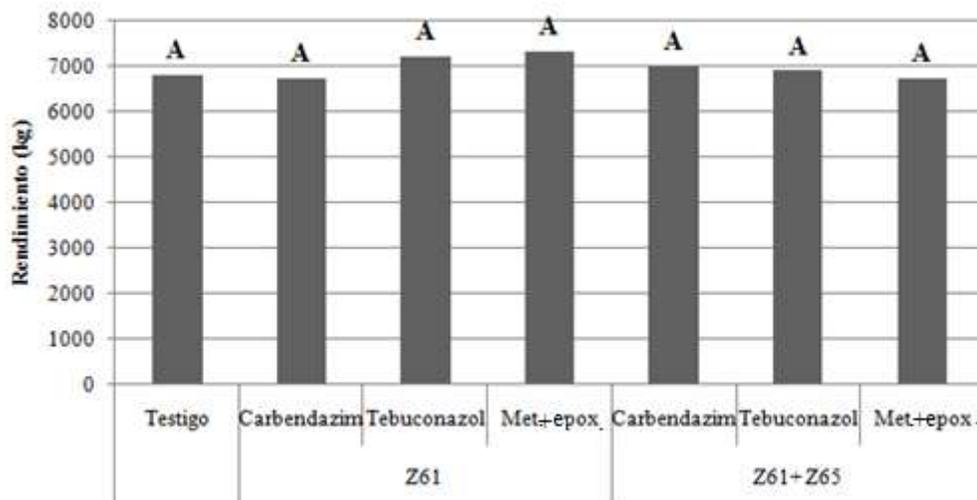


Barras con letras distintas difieren entre sí dentro de la misma variedad, Tukey ( $P < 0.05$ ), CV de Fuste: 165%; CV de Baguette 9: 67,2%.

Figura No. 25. Índice de enfermedad según tratamiento para ambas variedades.

#### 4.3.4 Rendimiento

No hubo efecto significativo del tratamiento sobre el rendimiento en kg de grano (Figura No. 27).



( $p = 0,2597$ , CV: 8,3%).

Figura No. 26. Rendimiento en grano según tratamiento para ambas variedades.

#### 4.3.5 Peso del grano

No hubo efecto significativo del tratamiento sobre el peso del grano ( $p= 0,1395$ , CV: 2,8%).

Cuadro No. 14. Resultado de los ANOVA para las variables incidencia, severidad, índice de enfermedad, rendimiento y peso de mil granos del año 2016.

F.V.	Incidencia	Severidad	Índice	Rend.	PMG
Bloque	ns.	ns.	ns.	0.0357	0.0029
Tratamiento	0.0006	0,0468	0.0032	ns.	ns.
Variedad	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0014	<0.0001
Variedad*tratamiento	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.

Incidencia (CV: 60%), severidad (CV: 60%), índice de enfermedad (CV: 89%), rendimiento (CV: 8,3%) y peso de mil granos (CV: 2,8%); ( $p<0,05$ ).

#### 4.3.6 Análisis comparativo del grupo químico de fungicida y el momento de aplicación

En el año 2016 el análisis por contrastes (ver anexo Cuadros No. 9 y No. 10) indica un efecto significativo de la aplicación de fungicidas sobre la incidencia en Baguette 9, al igual que el grupo químico de los triazoles aplicados, no habiendo diferencia entre momentos de aplicación. También hubo efecto significativo de la aplicación de fungicidas sobre el índice de enfermedad. La aplicación de fungicidas, el grupo químico utilizado, y el momento de aplicación no tuvieron efecto significativo sobre ninguna de las demás variables analizadas (PMG, rendimiento y % severidad, Cuadro No. 15).

Para Fuste hubo efecto significativo de la aplicación de fungicidas, y también del grupo químico utilizado, a diferencia del momento de aplicación que no tuvo efecto significativo sobre el porcentaje de incidencia. Se obtuvieron menores porcentajes de

severidad aplicando triazoles que aplicando benzimidazoles, sin embargo no hubo diferencia significativa entre aplicar fungicida o no aplicar, ni entre momentos de aplicación. La aplicación de fungicida, el grupo químico, y el momento de aplicación no tuvieron efecto significativo sobre el rendimiento. En el peso del grano solo tuvo efecto significativo aplicar fungicida, no habiendo diferencia entre grupos químicos y momentos de aplicación (Cuadro No. 16).

Cuadro No. 15. Análisis por contrastes ortogonales del efecto del fungicida, del grupo químico y del momento de aplicación, para el cultivar Baguette 9 en 2016.

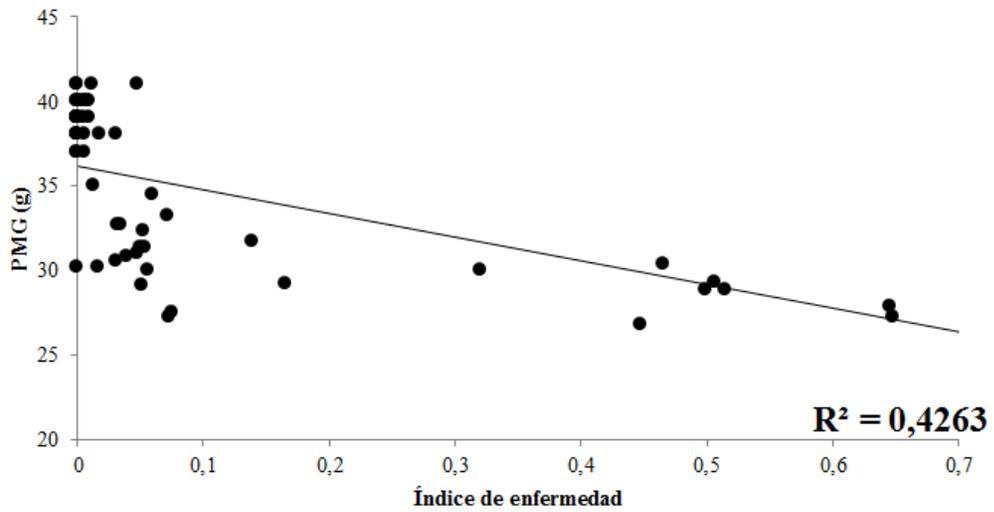
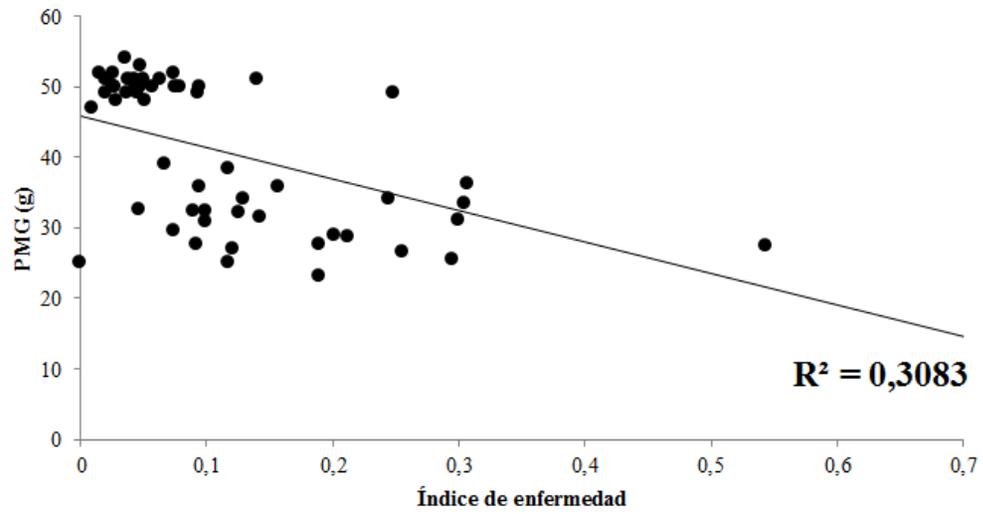
<b>BAGUETTE 9</b>						
Contrastes	Aplicación		Principio activo		Momento de aplicación	
Variables	Con	Sin	Benzimidazol	Triazol	Z61	Z61 + Z65
<b>PMG (g)</b>	50,4 A	49,5 A	50,3 A	50,4 A	50,0 A	50,8 A
<b>Rend. (kg)</b>	7256 A	7121 A	7038 A	7365 A	7170 A	7342 A
<b>%Inc.</b>	0,21 A	0,43 B	0,29 B	0,17 A	0,20 A	0,22 A
<b>%Sev.</b>	21,5 A	29,4 A	20,9 A	21,8 A	21,2 A	21,8 A
<b>Índice de enfermedad</b>	0,04 A	0,13 B	0,06 A	0,04 A	0,04 A	0,05 A

Cuadro No. 16. Análisis por contrastes ortogonales del efecto del fungicida, del grupo químico y del momento de aplicación, para el cultivar, para el cultivar Fuste en 2016.

<b>FUSTE</b>						
Contrastes	Aplicación		Principio activo		Momento de aplicación	
Variables	Con	Sin	Benzimidazol	Triazol	Z61	Z61 + Z65
<b>PMG (g)</b>	39,2 A	37,5 B	39,5 A	39,0 A	39,4 A	38,9 A
<b>Rend. (kg)</b>	6738 A	6530 A	6715 A	6750 A	7044 A	6432 A
<b>% Inc</b>	0,02 A	0,08 B	0,05 B	0,01 A	0,03 A	0,02 A
<b>% Sev</b>	7,6 A	18,3 A	16,9 B	2,9 A	8,3 A	6,9 A
<b>Índice de enfermedad</b>	0,00 A	0,01 A	0,01 B	0,00 A	0,00 A	0,00 A

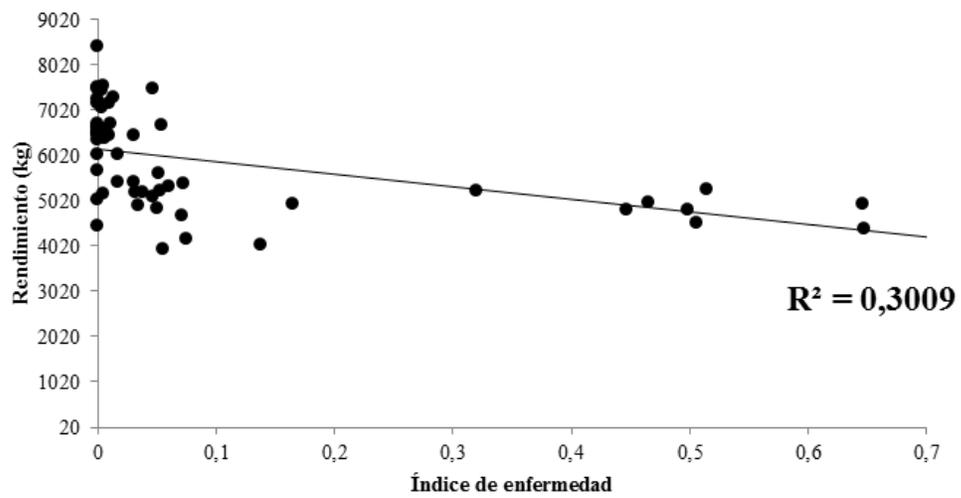
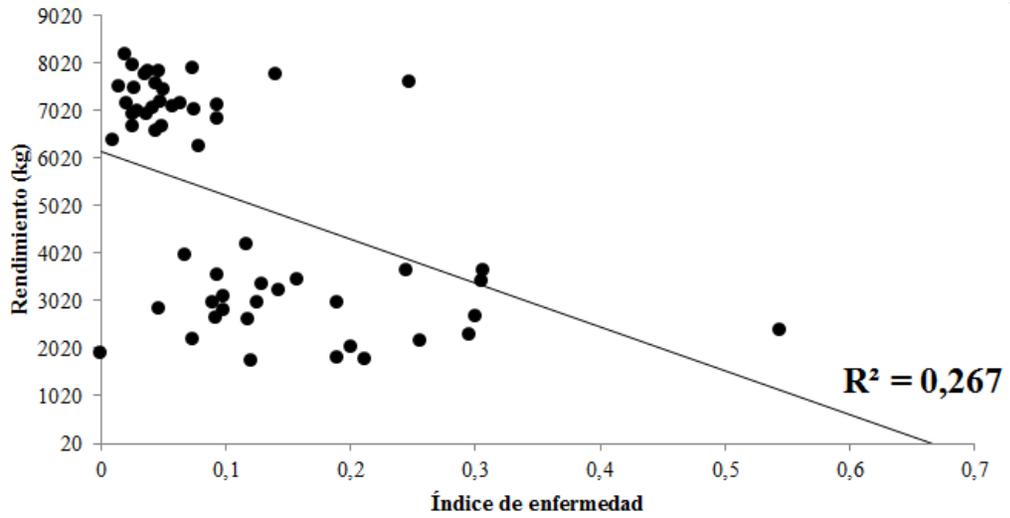
#### 4.3.7 Relación entre nivel de enfermedad, rendimiento y calidad de grano

En ambas variedades se observó correlación entre la cantidad de enfermedad y el peso de grano (Figura No. 28), al igual que para rendimiento (Figura No. 29). Los coeficientes de Pearson muestran que para ambas variedades hay correlación negativa entre la cantidad de enfermedad y peso de grano ( $p < 0.0001$ ) al igual que con rendimiento ( $p < 0.0001$ , ver anexo Cuadros No. 15 y No. 16).



La gráfica superior corresponde a Baguette 9 ( $p < 0.0001$ ) y la inferior a Fuste ( $p < 0.0001$ ).

Figura No. 27. Correlación entre el índice de enfermedad y el peso de mil granos para ambos años.



La gráfica superior corresponde a Baguette 9 ( $p < 0.0001$ ) y la inferior a Fuste ( $p < 0.0001$ ).

Figura No. 28. Correlación entre el índice de enfermedad y el rendimiento para ambos años.

#### 4.4 AJUSTE DE METODOLOGÍA PARA DETERMINACIÓN DE LOS FUNGICIDAS DE INTERÉS

##### 4.4.1 Evaluación de la veracidad y repetitividad

Tomando en cuenta que para tener una recuperación adecuada según el documento DG SANTE (2016), la misma debe estar comprendida en el rango de 70-120% se puede observar que en el método 1, los porcentajes de recuperación para carbendazim, metconazol y tebuconazol no fueron adecuados en ninguna de las dos repeticiones realizadas. El método 2 tampoco logró una buena recuperación para metconazol, ni para tebuconazol. El método 4 en las dos repeticiones que se realizaron mostró recuperaciones inferiores a las requeridas para que un método sea aceptado. En el método 6 los valores no se encuentran en los rangos óptimos para ningún compuesto. Por lo tanto no se seleccionaron para su validación (Cuadro No. 17).

Cuadro No. 17. Porcentaje de recuperación y porcentaje de desviación estándar relativa obtenidos a una concentración de 100 µg/kg para los 6 métodos evaluados.

		Carbendazim		Epoconazol		Metconazol		Tebuconazol	
Mét.	Rep.	%Rec.	%RSD	%Rec.	%RSD	%Rec.	%RSD	%Rec.	%RSD
1	1	68,5	1,9	105,1	3,4	47,9	4,9	52,5	0,0
	2	42,8	3,2	84,1	17,2	45,1	8,1	46,0	9,8
2	1	84,9	6,3	75,6	1,1	46,8	4,3	58,4	2,2
3	1	79,8	12,8	76,1	21,1	69,2	9,4	72,4	10,8
4	1	66,9	7,4	87,2	2,0	49,9	1,9	55,9	1,6
	2	34,0	28,1	52,4	30,0	36,0	26,2	37,4	24,7
5	1	83,7	15,4	88,5	12,8	78,9	24,7	87,1	16,5
	2	82,4	7,2	88,4	12,7	117,1	16,8	108,3	10,4
6	1	29,4	76,1	69,8	39,5	29,7	66,8	30,3	67,5

Para continuar con la validación de la metodología, se seleccionaron los métodos 3 y 5 dado que cuentan con %Rec. y %RSD que estuvieron comprendidos dentro de los parámetros que establece la (DG-SANTE, 2016). Dicha validación se realizó a partir de la evaluación de las cifras de mérito: linealidad, efecto matriz, límite de detección, límite de cuantificación y reproducibilidad, sobre este tema se profundiza en discusión.

La repetitividad se evaluó mediante 5 repeticiones como se explicó anteriormente, estos resultados mostraron nuevamente que el método 3 tiene buena

repetitividad para todos los fungicidas a 100 µg/kg, pero si se evalúa a concentraciones de 20 µg/kg, el epoxiconazol no tiene buenos porcentajes de recuperación. El método 5 tiene adecuados %Rec. y %RSD si se evalúa a concentraciones de 100 o 500 µg/kg para todos los compuestos, pero a concentraciones bajas, es decir de 10 o 20 µg/kg se observa que tanto el metconazol como el tebuconazol no presentan recuperaciones adecuadas según las declaradas por la DG-SANTE (2016, Cuadro No. 18).

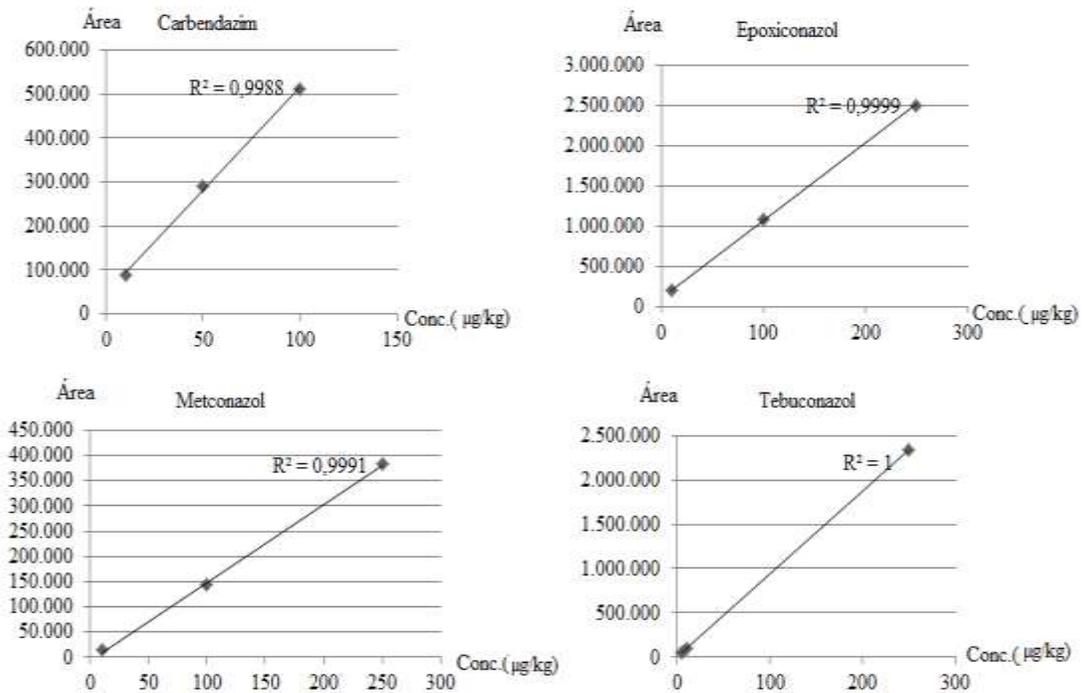
Cuadro No. 18. Evaluación de la veracidad y repetitividad a través de 5 repeticiones para cada compuesto, para las concentraciones 20 µg/kg y 100 µg/kg para el método 3 y 10µg/kg, 20µg/kg, 100 µg/kg y 500 µg/kg para el método 5.

		Método 3		Método 5	
P.A.	Concentr. (µg/kg)	%Rec.	%RSD	%Rec.	%RSD
Carbendazim	10	//	//	102	7
	20	109	9	80	5
	100	80	13	107	8
	500	//	//	104	3
Epoxiconazol	10	//	//	82	18
	20	158	10	183	22
	100	76	21	88	13
	500	//	//	103	5
Metconazol	10	//	//	44	6
	20	102	9	37	20

	100	69	9	117	17
	500	//	//	97	7
Tebuconazol	10	//	//	46	8
	20	98	10	42	14
	100	72	11	111	10
	500	//	//	95	5

#### 4.4.2 Evaluación de la linealidad

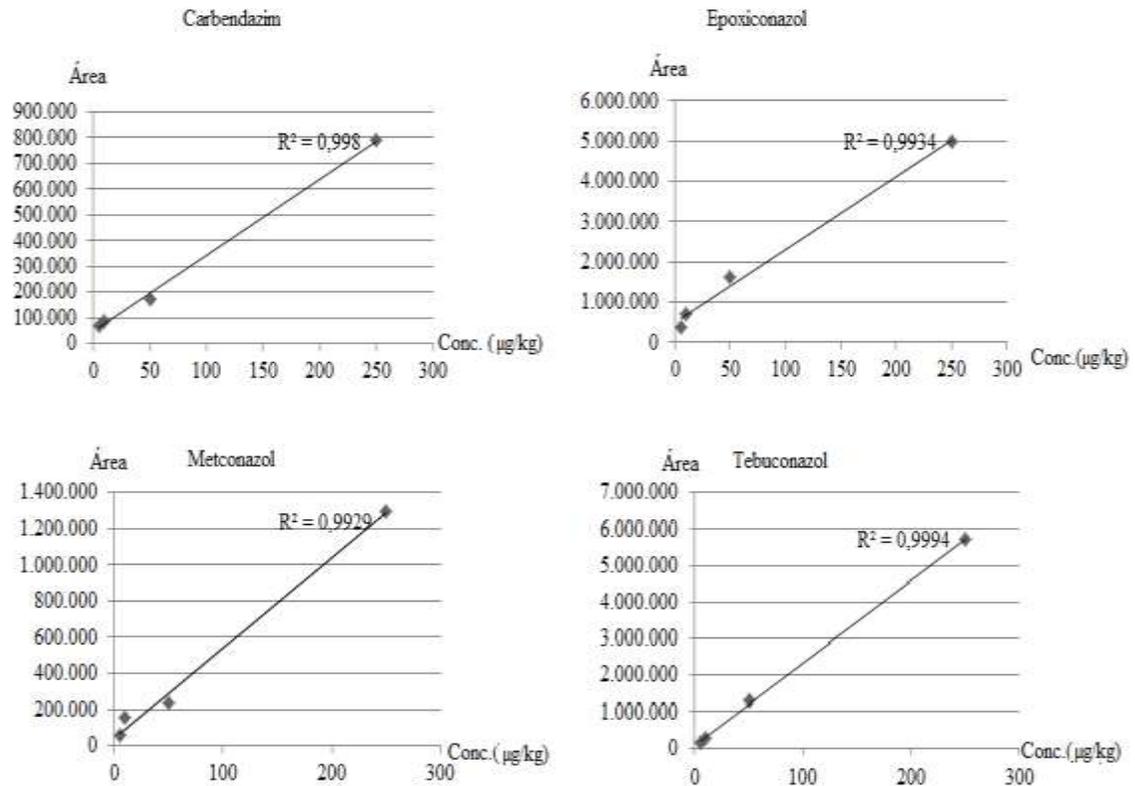
Se observó linealidad en matriz para ambas metodologías, para todos los compuestos en estudio, dentro del rango de concentraciones evaluado, obteniendo  $R^2$  superior a 0,99 en todos los casos (Figuras No. 29 y No. 30).



Área debajo de la curva de intensidad, detectada por el equipo HPLC-QqQ-MS en función de

concentración de fungicida para el método 3.

Figura No. 29. Evaluación de la linealidad de la curva de calibración para cada fungicida para método 3.



Área debajo de la curva de intensidad detectada por el equipo HPLC-QqQ-MS en función de concentración de fungicida para el método 5.

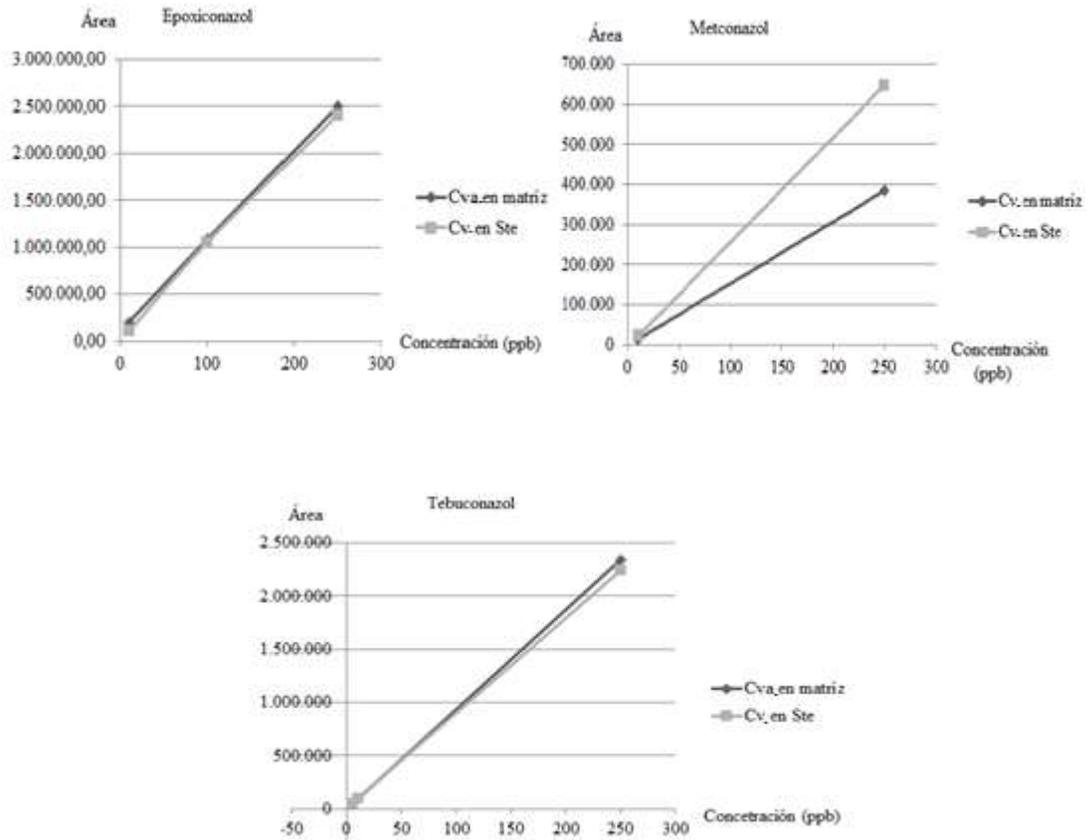
Figura No. 30. Evaluación de la linealidad de la curva de calibración para cada fungicida para método 5.

Al evaluar linealidad en solvente para epoxiconazol, metconazol y tebuconazol, se observó linealidad para los dos métodos, presentando R<sup>2</sup> superiores a 0,99. Como ya se dijo carbendazim, no fue detectado en solvente.

#### 4.4.3 Evaluación del efecto matriz

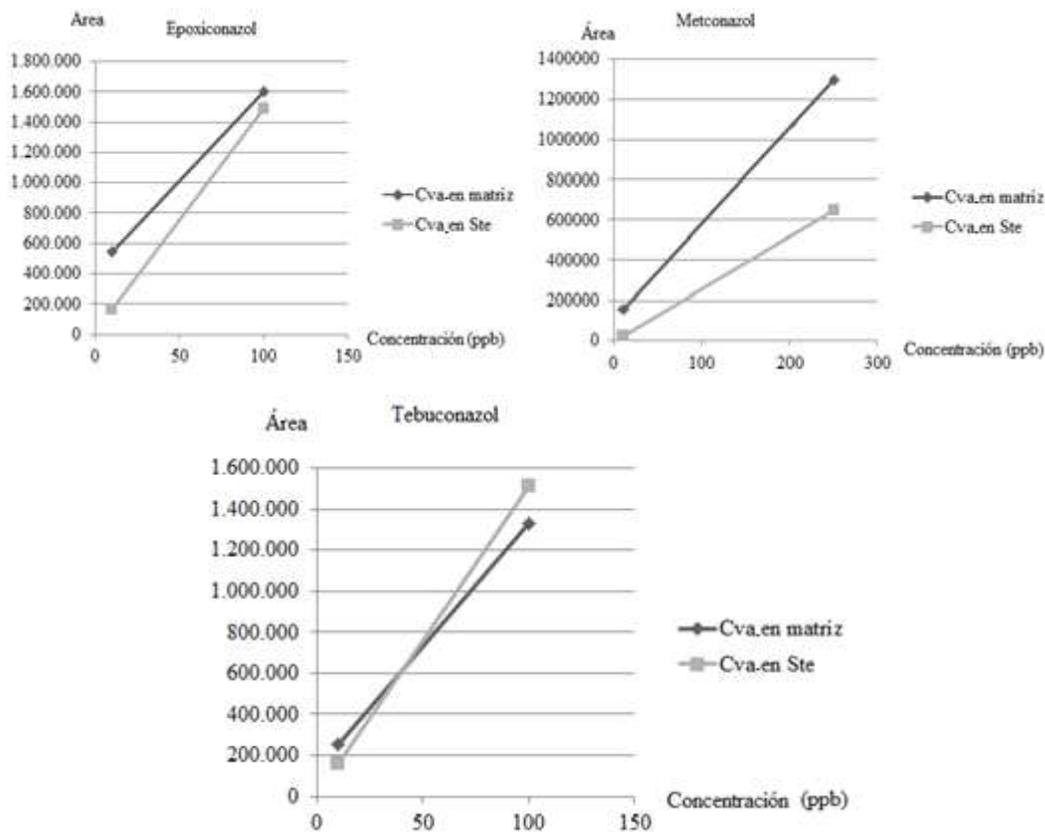
El efecto matriz se evaluó para los métodos 3 y 5 para los fungicidas epoxiconazol, metconazol y tebuconazol (Figuras No. 32 y No. 33). El carbendazim no fue detectado en solvente por lo tanto no se pudo calcular el efecto matriz en este

compuesto.



Arriba: curva en solvente y en matriz para epoxiconazol, metconazol extraídos según el método 3. Abajo: curva en solvente y en matriz para tebuconazol extraídos según el método 3.

Figura No. 31. Linealidad evaluada en matriz para epoxiconazol, metconazol y tebuconazol según método 3.



Arriba: curva en solvente y en matriz para epoxiconazol, metconazol extraídos según el método 5. Abajo: curva en solvente y en matriz para tebuconazol extraídos según el método 5.

Figura No. 32. Linealidad evaluada en matriz para epoxiconazol, metconazol y tebuconazol según método 5.

A partir de las curvas en solvente y matriz de cada fungicida para cada método evaluado, se calculó el efecto matriz (Cuadro No. 19). Tanto el epoxiconazol como el tebuconazol, no presentaron efecto matriz. El compuesto que tuvo mayor EM fue el metconazol, 82,7% en el método 5 y 40,9% en el método 3 (Figuras No. 32 y No. 33). Carbendazim no fue detectado en el HPLC en solvente.

Cuadro No. 19. Efecto matriz para todos los fungicidas mediante HPLC-QqQ-MS a través de las curvas de calibración en matriz y en solvente.

<b>Método 3</b>	Pendiente en matriz	Pendiente en solvente	EM (%)	EM
Carbendazim	4460	//	//	//
Epoxiconazol	9466,7	9066,7	4,41	No hay
Metconazol	1540,8	2610,8	-40,9	Moderado
Tebuconazol	9363,3	8939,2	4,7	No hay
<b>Método 5</b>	Pendiente en matriz	Pendiente en solvente	EM (%)	EM
Carbendazim	1744,4	//	//	//
Epoxiconazol	11744,4	14700	-20,1	No hay
Metconazol	4770,8	2610,8	82,7	Alto
Tebuconazol	11966,7	15000	-20,2	No hay

#### 4.4.4 LOQ y LOD

Los valores de LOQ y LOD son iguales según (DG- SANTE, 2016); se muestran valores según analito y según método analítico (Cuadro No. 20)

Cuadro No. 20. Valores de LOQ y LOD para el método 3 y 5.

	<b>Método 3</b>	<b>Método 5</b>
Carbendazim	20 µg/kg	10 µg/kg
Epoxiconazol	100 µg/kg	10 µg/kg
Metconazol	20 µg/kg	100 µg/kg
Tebuconazol	20 µg/kg	100 µg/kg

#### 4.4.5 Reproducibilidad

Se expone un ejemplo de reproducibilidad para el método 5. Mediante este análisis se pudo observar que el método es reproducible a concentraciones de 100 y 500 µg/kg para los cuatro principios activos, pero a concentraciones de 20 µg/kg para epoxiconazol, metconazol y tebuconazol no es reproducible. En los últimos dos compuestos, ninguno de los operarios consiguió buenas recuperaciones cuando se evaluó a 20 µg/kg, pero en epoxiconazol, uno de los operarios si tuvo buenas recuperaciones (Cuadro No. 21).

Cuadro No. 21. Reproducibilidad del método 5 a las concentraciones 20 µg/kg, 100 µg/kg y a 500 µg/kg para cada compuesto.

	<b>Carbendazim</b>					
	20 µg/kg		100 µg/kg		500 µg/kg	
	%Rec.	%RSD	%Rec.	%RSD	%Rec.	%RSD
Operario 1	80	5	107	8	104	3
Operario 2	75	7	79	12	81	12
Promedio	78	6	93	10	93	8
	<b>Epoxiconazol</b>					
	20 µg/kg		100 µg/kg		500 µg/kg	
	%Rec.	%RSD	%Rec.	%RSD	%Rec.	%RSD
Operario 1	183	22	88	13	102	5
Operario 2	93	14	78	19	97	8
Promedio	138	18	83	16	100	7
	<b>Metconazol</b>					
	20 µg/kg		100 µg/kg		500 µg/kg	

	%Rec.	%RSD	%Rec.	%RSD	%Rec.	%RSD
Operario 1	37	20	123	17	97	7
Operario 2	32	17	88	16	97	16
Promedio	35	19	106	17	97	12
	<b>Tebuconazol</b>					
	20 µg/kg		100 µg/kg		500 µg/kg	
	%Rec.	%RSD	%Rec.	%RSD	%Rec.	%RSD
Operario 1	42	14	111	10	95	5
Operario 2	37	15	86	7	96	7
Promedio	40	15	99	9	96	6

#### 4.4.6 Cromatogramas

Los resultados se extrajeron del HPLC-QqQ-MS mediante el programa Analyst Data (Analyst 1.5.1, 2010 ABSCIEX) como se explicó en materiales y métodos. Cada fungicida presenta una forma de cromatograma particular, esta forma varía entre compuestos, dado que cada uno es detectado con cierta intensidad y en diferente tiempo por el equipo (Cuadro No. 22).

Cuadro No. 22. Tiempo e intensidad al que el equipo detecta el compuesto en muestra contaminada a 5 µg/kg.

Compuesto	Ión	Intensidad	Tiempo (min)
Carbendazim	192/160	10000	8,62
	192/132	1200	8,61
	192/105	1200	8,6
Epoiconazol	303/121	100000	18,72
	303/101	6000	18,63
Metconazol	320/70	8000	19,58
	320/125	800	19,58
Tebuconazol	308/125	3000	19,01
	308/70	30000	19,01

Se exponen los cromatogramas presentados a concentraciones de 250 µg/kg dado que a estas concentraciones presentan curvas más definidas. Se observan en todos los cromatogramas que las transiciones (ion molecular + ion fragmento) se encuentran al mismo tiempo de retención.

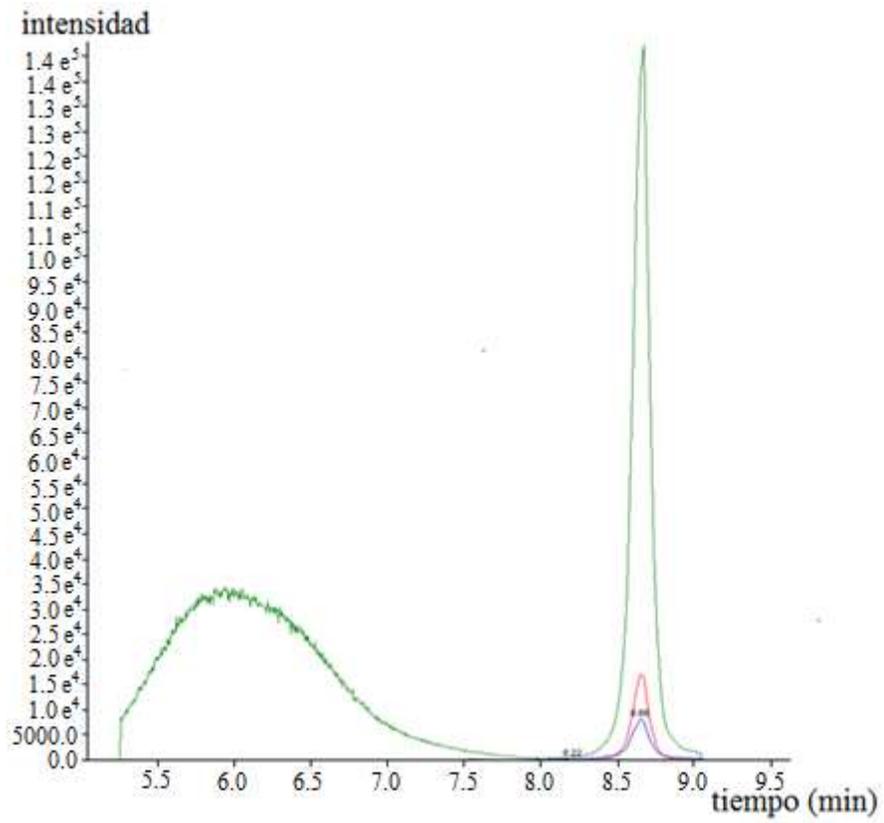


Figura No. 33. Cromatograma de carbendazim de extracto de trigo fortificado a  $250 \mu\text{g}/\text{kg}$ .

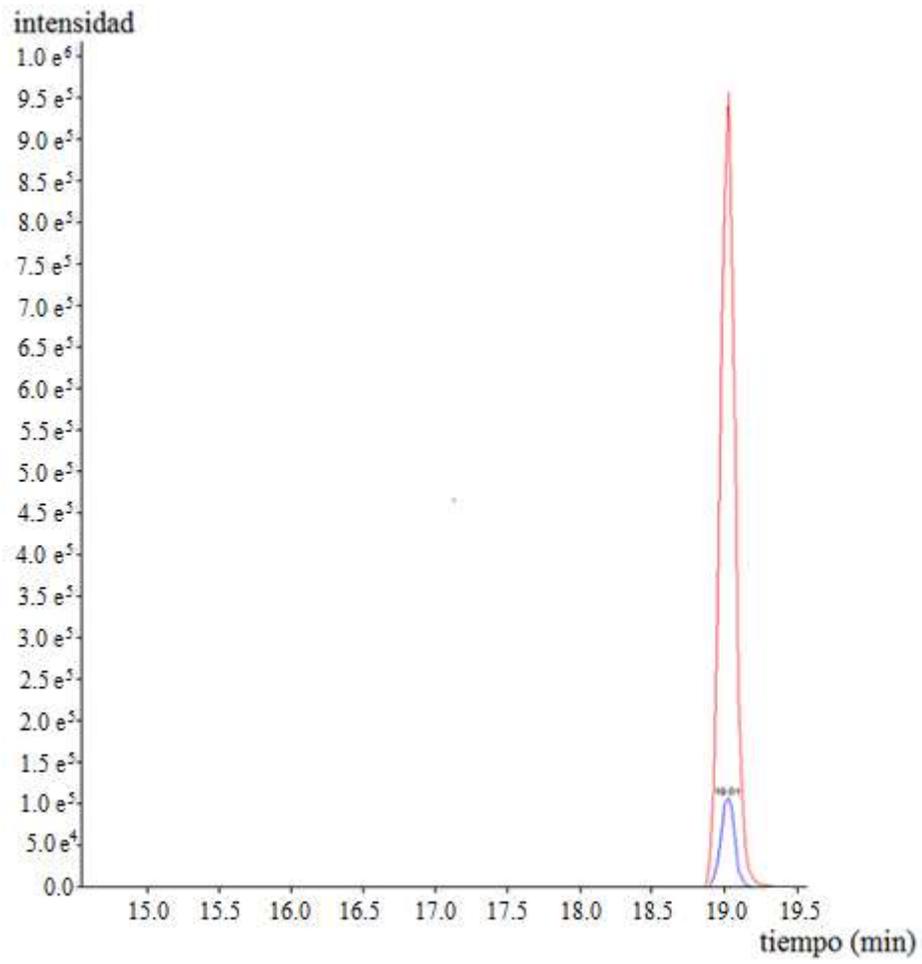


Figura No. 34. Cromatograma de epoxiconazol de extracto de trigo fortificado a 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

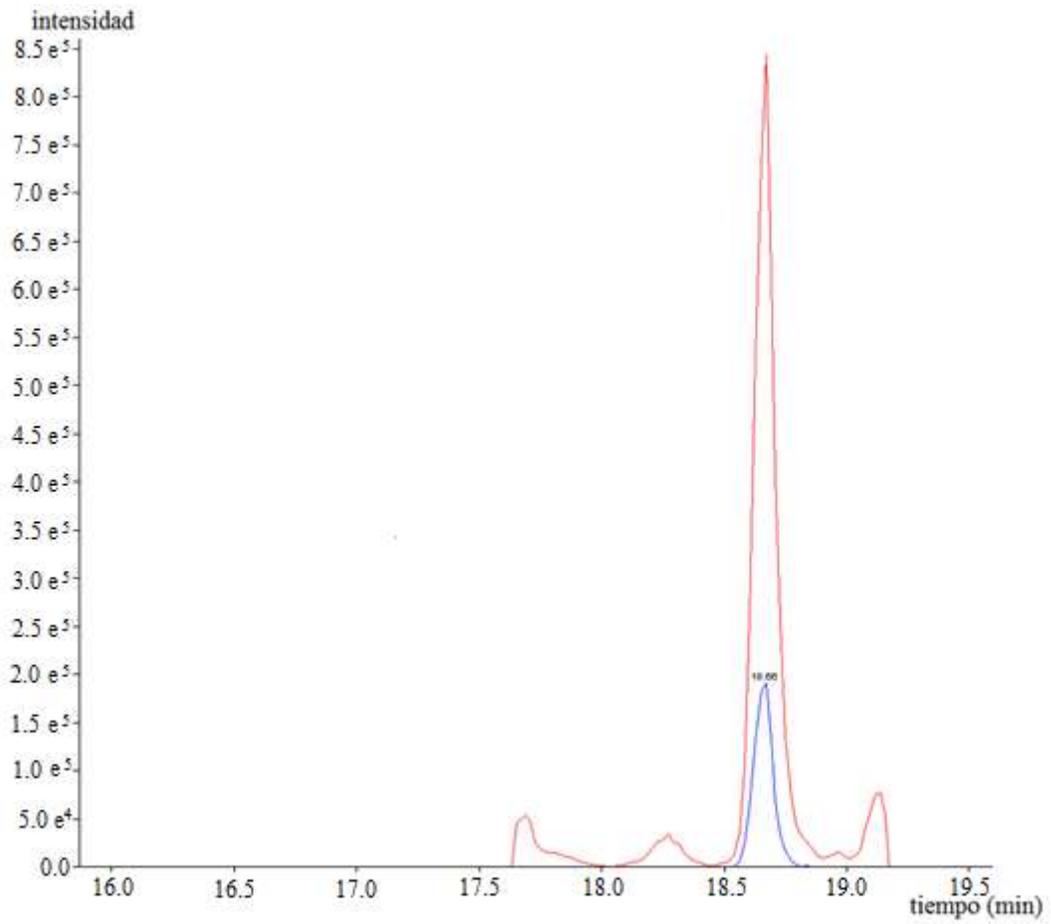


Figura No. 35. Cromatograma de tebuconazol de extracto de trigo fortificado a 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

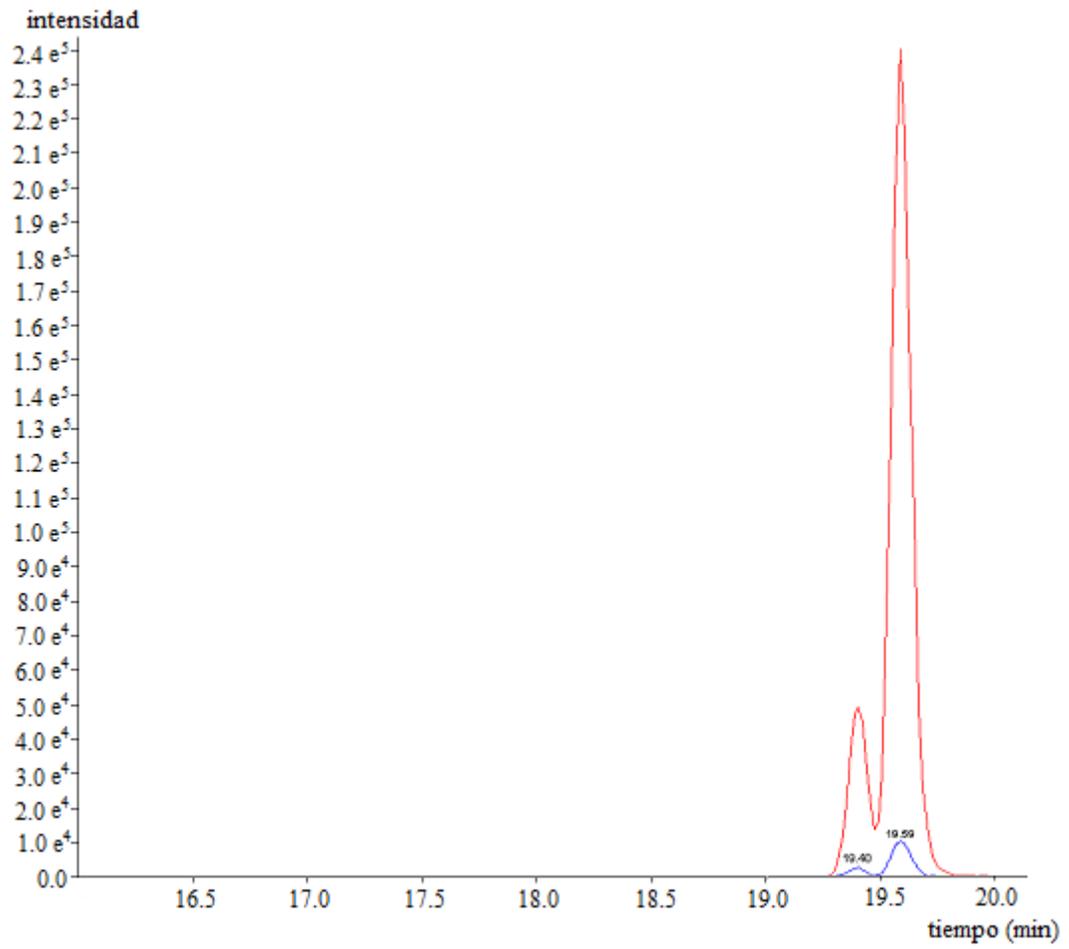


Figura No. 36. Cromatograma de metconazol de extracto de trigo a 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

## 5. DISCUSIÓN

En los dos años de evaluación se registraron bajos niveles de enfermedad de FE, debido a que las condiciones ambientales de temperatura, precipitaciones y humedad relativa determinaron que no se desarrollara una epifitía. A pesar de ello, el efecto de los factores analizados fue distinto en cada año y variedad. La aplicación de fungicida fue significativa logrando una reducción de la enfermedad, pero no generó mejoras en rendimiento y PMG. Los resultados entre años concuerdan salvo en casos puntuales de rendimiento y PMG que podrían deberse a otro factor sanitario. De los principios activos utilizados, el grupo químico que demostró un mejor desempeño fue el triazol, tanto simple como en mezcla. En general no se dieron diferencias al aplicar en forma simple o doble.

Según Moschini y Fortugno (1996), Mazzilli et al. (2011) deben darse por lo menos dos eventos críticos de infección para alcanzar un nivel considerable de enfermedad. En el 2015 durante el período de mayor susceptibilidad (hasta 15 días después de Z61), se dio solo un evento infeccioso para Fuste, que fue a los 7 días de Z61 (Figura No. 10), lo cual coincide con los resultados obtenidos (0.9% incidencia en tratamiento testigo). Para Baguette 9 se dieron 2 eventos críticos de infección (Figura No. 10), sin embargo los niveles de enfermedad alcanzados por el testigo son insignificantes (0,87% incidencia en tratamiento testigo).

Analizando con más detalle los eventos infecciosos que afectaron a este último cultivar, se puede ver que el primero se dio al día siguiente de registrado el estadio Z61 (50% de las espigas con 10% de sus anteras expuestas), y el segundo evento a los 15 días de Z61 (Figura No. 10). Las espigas con anteras expuestas cuando se dio el segundo evento eran las más atrasadas en el ciclo, por lo tanto eran las mismas que al darse el primer evento aún no tenían sus anteras expuestas. Esta diferencia en el desarrollo podría ser la razón por la cual el mayor porcentaje de espigas no acumuló dos eventos de infección, lo cual podría explicar que no se dieran niveles significativos de enfermedad.

Los pronósticos de DON emitidos por INIA para el 2015 difieren para ambas variedades dado que la espigazón ocurrió en diferentes momentos. El valor pronosticado fue mayor para Fuste (1,2 ppm) que para Baguette 9 (0,4 - 0,8 ppm), sin embargo el índice de enfermedad no concordó con esta predicción.

La ocurrencia de FE, se asocia más con el número de precipitaciones ocurridas durante el período de susceptibilidad, que con el volumen total registrado de las mismas (Mazzilli et al., 2011). Si bien el período de mayor susceptibilidad es la floración, las

infecciones pueden darse también durante el llenado de grano (Del Ponte et al., 2007). En el año 2002 se dieron casi 3 y 4 veces más eventos infecciosos que en 2015 y 2016 respectivamente durante todo el período de susceptibilidad, y el número de precipitaciones registradas también fue mayor (Figuras No. 10, No. 11 y No. 12). Esto confirma que en los dos años que se realizó el ensayo, no se dieron condiciones que favorecieron el desarrollo de una epifiticia importante.

Aplicaciones en años con características climáticas similares a las de 2015 y 2016 no justificaría la aplicación de fungicidas dado que a pesar de reducir significativamente el índice de enfermedad y los factores que lo conforman, niveles de enfermedad tan bajos no inciden en la calidad del grano ni en el rendimiento. Al analizar las condiciones climáticas del año 2002 (año de epidemia severa) se concluye que si en dicho año un cultivo alcanzara la floración en la misma fecha que se dio para el ensayo 2016, se hubieran registrado cinco eventos infecciosos, y todos con temperaturas iguales o mayores a 20 °C.

Los niveles de enfermedad cuantificados por el índice de enfermedad no alcanzaron a valores de 1 en ninguno de los testigos. Lo que determina bajos valores de este índice fue el porcentaje de incidencia, dado que los porcentajes de severidad son considerables (entre 27 y 60%). Según los contrastes, este índice se redujo significativamente con aplicaciones de fungicida en ambas variedades, lo cual concuerda con Pérez (2004) que señala que la aplicación de fungicidas es el método post-siembra más eficiente para el control de *Fusarium* sp. Los triazoles fueron más eficientes que los benzimidazoles para el control de FE, coincidiendo con Pereyra y Germán (2012), ya que se establecen diferencias significativas en el índice de enfermedad para Fuste (Figura No. 15), no así para Baguette 9 (Figura No. 16). Para esta última variedad los contrastes indican que no existe una diferencia significativa entre aplicaciones en Z61 y en Z65 en el índice de enfermedad.

El % de incidencia registrado en el blotter test realizado en 2015 es de niveles que en promedio no superan el 1% (Figuras No. 17 y No. 18). Estos valores reafirman lo observado a campo y expresado mediante el índice de enfermedad, indicando cuántos granos se encuentran infectados sobre el total de granos cosechados; lo cual indica que a campo se pudo determinar en buena forma la infección.

El rendimiento en Fuste (Figura No. 19) fue superior al de Baguette 9 (Figura No. 20), a su vez sólo en esta última variedad hubo efecto significativo del tratamiento. En Baguette 9 el testigo rindió 43% menos que el tratamiento con aplicación en Z61 de

metconazol + epoxiconazol (tratamiento con mayor rendimiento). Es posible que la caída en el rendimiento en el testigo de Baguette 9 sea explicada en gran medida por la caída en el PMG (Figura No. 22), dado que para este cultivar tiene una importancia mucho mayor que para Fuste en la composición del rendimiento (Hoffman et al., 2009). Sin embargo, esta caída en el peso de grano no fue generada por FE dado los bajos niveles de enfermedad (índice de enfermedad menor a 1%), sino que es debida a la presencia de roya de la hoja (*Puccinia triticinia*) en este cultivar de alta susceptibilidad. La aplicación de fungicidas para el control de FE sin dudas tiene efecto sobre las enfermedades foliares (Pereyra y Germán, 2012), lo cual explica las diferencias en rendimiento pese a la ausencia de FE. Los contrastes reafirman esto, dado que sólo en Baguette 9 la aplicación de fungicida tuvo efecto significativo en el rendimiento y PMG, sin ser significativo en el índice de FE. A su vez, indican que los triazoles fueron más eficientes que los benzimidazoles en ambas variedades, coincidiendo con los autores mencionados. También estos contrastes indican que aplicar en Z61 es más efectivo que en Z65 (Baguette 9), esto concuerda con Díaz de Ackermann y Pereyra (2011), Blandino et al. (2013), Pereyra (2013) quienes recomiendan en caso de las aplicaciones simples, las tempranas (Z61). No hubo diferencia significativa entre aplicar en Z61 o en Z61 + Z65 (Fuste), esto pudo deberse a que no se dieron condiciones para el desarrollo de la enfermedad por lo tanto con una aplicación sería suficiente, esto concuerda con Pereyra (2013).

En el 2016 durante el período de mayor susceptibilidad (hasta 15 días después de Z61) se dio un solo evento infeccioso (Figura No. 11), por lo cual se obtuvieron niveles de enfermedad insignificantes (índice de enfermedad 0,01 y 0,13, en Fuste y Baguette 9 respectivamente). Como ya se mencionó anteriormente un sólo evento infeccioso no es suficiente para la ocurrencia de epifitía.

Se presentó un bajo índice de enfermedad, no superando el 0,2 en ninguno de los testigos. Este valor se obtuvo de porcentajes de incidencia que son bajos, al igual que los de severidad (el testigo no superó el 25%). Mediante contrastes se observó que la aplicación de fungicida redujo el índice de enfermedad en caso de presentarse la misma, como es el caso de Baguette 9 a diferencia de Fuste. Los tratamientos generaron efectos similares sobre el porcentaje de incidencia y de severidad, presentando los triazoles mayor eficiencia, a excepción del tebuconazol aplicado en Z61 y Z61 + Z65 que no se diferenció del testigo en porcentaje de incidencia. El tratamiento tuvo efecto significativo en el índice de enfermedad para Baguette 9, pero no para Fuste. Esto se debe a que Baguette 9 tuvo mayor índice de enfermedad, lo cual podría explicarse por la mayor susceptibilidad del mismo (INIA e INASE, 2014). Los contrastes indicaron que

existen diferencias significativas entre aplicaciones de triazoles y benzimidazoles para la variedad Fuste (Cuadro No. 13) en el índice de enfermedad, pero no para Baguette 9 (Cuadro No. 12), dado que para esta última variedad los triazoles no lograron reducir el % de severidad. Para ninguna de las variedades hubo diferencia significativa entre aplicación en Z61 o Z61 + Z65 en índice de enfermedad, dado que las condiciones ambientales no favorecieron el desarrollo de la enfermedad. Para que los resultados fueran favorables hacia la doble aplicación se deberían dar condiciones más predisponentes para la enfermedad y este efecto se podría ver más potenciado en cultivares susceptibles como Baguette 9. Además este resultado puede deberse a que entre ambos periodos (Z61 y Z65) se dio solamente un evento infeccioso. Estos resultados dejan en claro que en un año en el cual no se dan condiciones para que se desarrolle una epifitias (bajo índice de enfermedad), el momento de aplicación no es el parámetro más relevante.

No se observó diferencia en rendimiento y PMG entre aplicar o no fungicidas, entre principios activos y entre momentos de aplicación, a excepción de que aplicar benzimidazol o triazoles (tanto en Z61 como en Z61 + Z65) en Fuste generó mayor PMG.

Lo que se espera según los artículos estudiados es que, a mayor nivel de enfermedad se vea afectada considerablemente la calidad, tal como lo indican Gonnet y Bentancur (2004), Goswami y Kistler (2004), es decir se espera un menor peso de grano. Debido a esto se generan pérdidas de rendimiento, tal como exponen (Dill-Macky 1996, Ramírez et al. 2004).

Observando la correlación entre PMG y el índice de enfermedad se observó para ambas variedades que hay regresión lineal negativa, aunque con un coeficiente bajo. En los casos que dicho índice fue mayor, el PMG siempre estuvo contenido en el cuadrante inferior de la gráfica (Figura No. 27). Lo mismo ocurrió con el rendimiento (Figura No. 28).

## 5.1 AJUSTE Y VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS

Los seis métodos probados permiten detectar más de un fungicida en el grano de trigo y además poseen la ventaja de ser rápidos, sencillos, y poco dañinos para el medio ambiente como reconoce Anastassiades et al. (2003). Dentro de los múltiples métodos multiresiduos que hay, se trabajó sobre variaciones de QuEChERS ya que se observó en estudios realizados en Uruguay y en Argentina, que estos se ajustaban adecuadamente para la detección de residuos en cereales (Pareja 2012, Strada et al. 2012). La técnica instrumental utilizada fue HPLC-QqQ-MS dado que ofrece elevada

selectividad y sensibilidad (Pareja, 2012).

Según los resultados de los métodos analíticos probados se puede observar que los métodos 1, 2, 4 y 6 no cumplen con al menos uno de los siguientes requisitos: que el %Rec. esté comprendido entre 70 y 120% y/o que el %RSD sea igual o menor a 20%, estos rangos son los que establece la DG SANTE (2016) para poder confirmar que un método es exacto y preciso para la cuantificación de residuos.

Por otro lado, los métodos 3 y 5 mostraron buenos resultados para todos los fungicidas a concentraciones de 100 µg/kg, por lo tanto fueron estos dos métodos con los cuales se realizó la validación. Se continuó con evaluaciones de repetitividad, linealidad, efecto matriz, límite de detección, límite de cuantificación y reproducibilidad.

La repetitividad evaluada a concentraciones de 20 µg/kg, evidenció que el método 3 no tiene buena repetitividad para epoxiconazol a bajas concentraciones, por lo tanto los valores LOD y LOQ para este principio activo es 100 µg/kg. El método 5 tiene adecuados %Rec. y %RSD para concentraciones de 10, 100 y 500 µg/kg para los compuestos carbendazim y epoxiconazol, por lo que sus valores de LOD y LOQ son 10 µg/kg. Sin embargo al no recuperar adecuadamente metconazol y tebuconazol a bajas concentraciones, los valores de LOQ y LOD para estos analitos es de 100 µg/kg.

La linealidad se evaluó como plantea DG-SANTE (2016), se observaron comportamientos lineales ya que se cumple con coeficientes de correlación ( $R^2$ ) superiores a 0,99 y además fue evaluada mediante inspección visual, tanto en solvente como en matriz.

En cuanto al EM, el compuesto que tuvo mayor EM fue el metconazol, 82,7 % en el método 5 y -40,9% en el método 3. Es decir en este último compuesto se puede presentar una subestimación (82,7%) o sobreestimación (-40,9%) según el método empleado, por lo que se debe cuantificar mediante curvas de calibración en matriz.

Los valores de LOD y LOQ obtenidos fueron para todos los fungicidas en el método 3 menores a los valores de LMRs establecidos por la Unión Europea y el Codex Alimentarius cumpliendo de esta forma con los lineamientos establecidos. Por su parte el método 5 para los fungicidas carbendazim, epoxicoanzol y metconazol también presenta valores de LOD y LOQ menores a los LMR, sin embargo para tebuconazol los valores de LOD y LOQ son iguales a los LMR (100 µg/kg).

La última evaluación fue la reproducibilidad, para metconazol y tebuconazol ninguno de los operarios consiguió buenas recuperaciones a bajas concentraciones, pero en epoxiconazol, uno de los operarios si tuvo buenas recuperaciones, por lo tanto esta diferencia se puede atribuir a las diferentes fuerzas de agitación de los operarios, en la etapa de extracción.

Si comparamos los métodos 1, 2, 4 y 6 que no tuvieron valores adecuados de %Rec y/o %RSD, con los método 3 y 5 que tuvieron valores adecuados en los parámetros de validación, se observa que éstos últimos tuvieron una etapa de agitación en orbital shaker a diferencia de los demás métodos. A su vez éstos dos tenían en común la utilización de una muestra de 5 g, en ambos hidratada con agua destilada, el solvente utilizado en las dos metodologías fue ACN y la etapa de clean up fue igual.

## 6. CONCLUSIONES

Tomando en cuenta el objetivo de evaluar diferentes manejos de control químico para FE en trigo, se concluye que la aplicación de fungicidas redujo los niveles de la enfermedad, aunque en situaciones de producción serían insignificantes los niveles de enfermedad alcanzados y no representan una epifitias que justifique la aplicación de algún fungicida. Para la variedad Fuste en ambos años, los triazoles aplicados de forma simple o doble fueron más eficientes que los benzimidazoles, el cual generó el mismo índice de enfermedad que el testigo. A su vez se observa una correlación negativa entre el índice de enfermedad y rendimiento o peso de mil granos. Para Baguette 9 en 2015 aplicaciones de triazoles en Z61 o mezcla de triazoles en Z65 generaron mayores rendimientos que aplicaciones de benzimidazoles, las cuales no se diferenciaron del testigo. En cuanto al PMG en el 2015 la aplicación de benzimidazol no se diferenció del testigo, a diferencia de las aplicaciones de triazoles que generaron mayor peso de grano. Además para ambas variedades la aplicación de la mezcla de triazoles generó mayor PMG sin importar el momento de aplicación si se compara con aplicaciones de tebuconazol simple o benzimidazoles. En cambio en el 2016 no hubo efecto del tratamiento para esta variable; es decir que las ventajas que genere un tratamiento en particular, dependen de las condiciones climáticas y del material genético.

En cuanto a la elección de un método de detección de residuos para los cuatro principios activos utilizados, se concluye que, tanto el método 3 como el método 5, cumplieron con los criterios establecidos por la guía DG-SANTE (2016) respondiendo así a las exigencias de la Unión Europea y Codex Alimentarius para el análisis de residuos de fungicidas.

## 7. RESUMEN

En las últimas décadas el área sembrada de trigo en Uruguay ha mostrado un apreciable incremento, llegando a 465 mil ha en el año 2011/12. La reducida diversificación de cultivos, junto a la siembra directa y la agricultura continua, generó que enfermedades como fusariosis de la espiga (FE) causado por *Fusarium graminearum*, fueran beneficiadas. Esta enfermedad causa pérdidas tanto de rendimiento como en calidad. Su manejo preventivo y la baja resistencia genética en los genotipos actuales, generan que sea una enfermedad de difícil control, con un uso excesivo de los fungicidas. Este trabajo tiene por objetivos evaluar diferentes manejos de control químico para FE en trigo, en dos zafras en la localidad de Paysandú y validar un método de determinación de residuos de los fungicidas utilizados para su control en grano. En este marco, se instaló un experimento a campo en los años 2015/16 con dos cultivares de trigo (Fuste y Baguette 9) de comportamiento sanitario contrastante. Se utilizaron los principios activos, epoxiconazol y metconazol aplicados en mezcla, carbendazim y tebuconazol. Los momentos de aplicación fueron en Z61, Z65 y Z61 + Z65. Los parámetros evaluados fueron % incidencia, % severidad, índice de enfermedad, rendimiento, peso de mil granos (PMG) y número de granos (el último evaluado mediante blotter test). Además se evaluaron seis metodologías para la extracción de los fungicidas, con variaciones del método de extracción QuEChERS. Los resultados mostraron que para ambos años fue conveniente la aplicación de fungicidas para la reducción de FE, salvo para una de las variedades en uno de los años. Para Fuste en ambos años se observó que los triazoles aplicados de forma simple o doble fueron más eficientes que el benzimidazol que no se diferenció del testigo. En rendimiento, Baguette 9 en el 2015 las aplicaciones de triazoles en Z61 o mezcla de triazoles en Z65 generaron mayores rendimientos que el benzimidazol, este último no se diferenció del testigo. El PMG en el 2015 en Baguette 9, la aplicación de benzimidazol no se diferenció del testigo pero si todas las aplicaciones de triazoles; en Fuste la aplicación de la mezcla generó mayor peso de mil granos tanto en Z61 como en Z61 + Z65. Dado que hubo bajos niveles de enfermedad, los resultados son muy variables y con altos coeficientes de variación. Entre rendimiento corregido por humedad y nivel de enfermedad, se observa una correlación negativa con coeficientes de regresión bajos. En cuanto al desarrollo de metodologías analíticas para la determinación de residuos de fungicidas en grano de trigo, los métodos 1, 2, 4 y 6 no cumplen con los porcentajes de recuperación y RSD requeridos, y con las exigencias para el análisis de residuos de fungicidas. En cambio el método 3 y el método 5 si cumplen las exigencias. Los resultados son un aporte valioso y sin precedentes para el país, ya que son los fungicidas de mayor uso para el control de FE en trigo.

Palabras clave: Fusariosis de la espiga; Control químico; Residuos de fungicidas en grano.

## 8. SUMMARY

During the last decades, the planted area with wheat has shown a substantial increase, reaching 465 thousand hectares by 2011/12. The reduced diversification of crops, in addition with the direct seeding and the continuous agriculture; generated propitious conditions for diseases like wheat FE head blight, caused by *Fusarium graminearum*. This disease causes production and quality losses. The preventive management and the low resistance of the genotypes used, makes this disease hard to control, and is necessarily to use fungicides in excess. This work aims to evaluate different chemical control management for wheat *Fusarium* head blight in two harvests in the locality of Paysandú and to validate a method to determine residues of the fungicides used for grain control. The experiment was settled down in field during 2015/16, with two wheat cultivars (Fuste y Baguette 9), which has contrasting sanitary behavior. For the treatments it was used epoxiconazol and metconazol, as active ingredients; applied in mixture with carbendazim and tebuconazol. The application was realized at Z61, Z65 and Z61 + Z65. The evaluated parameters were: percent of incidence and severity, illness index, production, thousand grain weight, and number of grains (using blotter test). In addition there six methodologies for the extraction of fungicides, with variation of the extraction method QuEChERS were evaluated. The results shown, that in both years the application of fungicides reduced the *Fusarium* head blight; except in one case. It was observed in 'Fuste', that the triazoles applied in single or double way, were more efficient than the benzimidazol which did not show differences from the control. The application of triazoles in Z61 or mix of triazoles in Z65, allowed obtain a superior production than the treatment with benzimidazol, which again did not show differences from the control. Regarding the parameter thousand grain weight the application of benzimidazol during 2015 in 'Baguette 9', was similar from the control; but differences were observed in all the applications of triazoles. In 'Fuste', the mixed application showed better results in Z61 and Z61+Z65. Cause of the low illness levels, the results were variables, and has high variation coefficients. It was observed a negative correlation with low regression coefficients between moisture-corrected production and the illness level. In terms of the development of analytical methodologies for the determination of fungicide residues in wheat grain, methods 1, 2, 4 and 6 do not meet the recovery and RSD percentages required for the analysis of fungicide residues. In contrast method 3 and method 5 if they meet the requirements. The results are a valuable contribution and unprecedented for the country, since they are the most used fungicides for the control of FE in wheat.

Key words: Wheat *Fusarium* head blight; Chemical control; Fungicides residues in grains.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Agrios, G. 1995. Fitopatología. 2ª. ed. México, Uteha/Noriega. 838 p.
2. Alconada, T.; Kikot, G. 2013. Fungal infection and disease progression *Fusarium spp.* enzymes associated with pathogenesis and loss of commercial value of wheat grains. In: Alconada, T.; Noemi, S. eds. Fusarium head blight in Latin America. La Plata, Universidad Nacional de La Plata. pp. 99-122.
3. Anastassiades, M.; Lehotay, S.; Štajnbaher, D.; Schenck, F. 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. Journal of AOAC International. 86(2):412-431.
4. Andersen, A. 1948. The development of *Gibberella zeae* head blight of wheat. Phytopathology. 38(8):599-611.
5. Bai, Q.; Liu, C. 1986. Dissipation of propiconazole residues in and on wheat (*Triticum aestivum L.*). Pesticide Science. 19(3):229-234.
6. Bayer. s.f. CropScience Argentina; Sphere max. (en línea). s.l. s.p. Consultado 17 nov. 2016. Disponible en <http://cropscience.bayer.com.ar/soluciones-bayer/p192-sphere-max>
7. Birzele, B.; Meier, A.; Hindorf, H.; Kramer, J.; Dehne, H. 2002. Epidemiology of *Fusarium* infection and deoxynivalenol content in winter wheat in the Rhineland, Germany. European Journal of Plant Pathology. 108(7):667-673.
8. Blandino, M.; Minelli, L.; Reyneri, A. 2006. Strategies for the chemical control of fusarium head blight: effect on yield, alveo-graphic parameters and deoxynivalenol contamination in winter wheat grain. European Journal of Agronomy. 25(3):193-201.
9. \_\_\_\_\_; Haidukowski, M.; Pascale, M.; Plizzari, L.; Scudellari, D.; Reyneri, A. 2013. Integrated strategies for the control of fusarium head blight and deoxynivalenol contamination in winter wheat. Field Crops Research.

133:139-149.

10. Bottalico, A. 1998. Fusarium disease of cereals; species complex and related mycotoxin profiles. *European Journal of Plant Pathology*. 80(2):85-103.
11. CASAFE (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes, AR). 2007. Guía de productos fitosanitarios. Buenos Aires, Argentina. 881 p.
12. Champbeil, A.; Doré, T.; Fourbet, J. 2004. Fusarium head blight; epidemiological origin of the effects of cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by *Fusarium* in wheat grains. *Plant Science*. 166(6):1389-1415.
13. Coscollá, R. 1993. Residuos de plaguicidas en alimentos vegetales. Madrid, Mundi-Prensa. 205 p.
14. Cromlamb. s.f. Extracción en fase sólida dispersiva; QuEChERS. (en línea). Barcelona, España. s.p. Consultado 17 nov. 2016. Disponible en [http://www.cromlab.es/EFS\\_HS\\_QUECHERS.htm](http://www.cromlab.es/EFS_HS_QUECHERS.htm)
15. Del Ponte, E.; Fernandes, J.; Bergstrom, G. 2007. Influence of growth stage on fusarium head blight and deoxynivalenol production in wheat. *Journal Phytopathology*. 155:577-581.
16. Díaz de Ackermann, M.; Kohli, M. 1997. Research on Fusarium head blight of wheat in Uruguay. *In*: Dubin, H.; Gilchrist, L.; Reeves, J.; McNab, A. eds. *Fusarium head scab; global status and future prospects*. México, CIMMYT. pp. 13-18.
17. \_\_\_\_\_; Pereyra, S.; Stewart, S.; Mieres, J. 2002. Fusariosis de la espiga en trigo y cebada. (en línea). Montevideo, Uruguay, INIA. s.p. Consultado 17 nov. 2016. Disponible en [http://inia.inia.org.uy/novedades/art%EDculo\\_micotoxinas.htm](http://inia.inia.org.uy/novedades/art%EDculo_micotoxinas.htm)
18. \_\_\_\_\_. 2004. Manejo de enfermedades en trigo. *In*: Jornada Técnica Cultivos de Invierno (2004, Colonia, Uruguay). Trabajos presentados. Montevideo, INIA. pp. 12-18 (Actividades de Difusión no. 357).
19. \_\_\_\_\_.; Pereyra S. 2011. Fusariosis de la espiga de trigo y cebada. *In*:

Pereyra, S.; Díaz de Ackermann, M.; Germán, S.; Cabrera, K. eds. Manejo de enfermedades en trigo y cebada. Montevideo, INIA. pp. 111-128 (Serie Técnica no. 189).

20. Dill-Macky, R. 1996. Fusarium head blight: recent epidemics and research efforts in the upper midwest of the United States. In: Dubin, H.; Gilchrist, L.; Reeves, J.; McNab, A. eds. Fusarium head scab; global status and future prospects. México, CIMMYT. pp. 1-6.
21. Ediciones Agrotécnicas. s.f. Terralia; información actualizada del sector. (en línea). Madrid, España. s.p. Consultado 20 nov. 2016. Disponible en <https://www.terralia.com>
22. European Commission. DG SANCO (Directorate General for Health and Food Safety, BE). 2011. Method validation and quality control procedures for pesticide residue analysis in food and feed. (en línea). Brussels. 41 p. Consultado 17 nov. 2016. Disponible en [http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance\\_Sanco\\_2011\\_12495.pdf](http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2011_12495.pdf)
23. \_\_\_\_\_. DG SANTE (Directorate General for Health and Food Safety, BE). 2016. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. (en línea). Brussels. 46 p. Consultado 17 nov. 2016. Disponible en [https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides\\_mrl\\_guidelines\\_wrkdoc\\_11945.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_11945.pdf)
24. \_\_\_\_\_. EFSA (European Food Safety Authority, PAR). 2016. Pesticides database. (en línea). s.l. s.p. consultado 17 nov. 2016. Disponible en <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN>
25. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). s.f. Codex Alimentarius; residuos de plaguicidas en alimentos y piensos. (en línea). Roma. s.p. Consultado 17 nov. 2016. Disponible en <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/pestres/es/>

26. \_\_\_\_\_. 1993a. Directrices sobre buenas prácticas de laboratorio en el análisis de residuos de plaguicidas CAC/GL 40-1993. Roma. 41 p.
27. \_\_\_\_\_. 1993b. Parte del producto a la que se aplican los límites máximos del codex para residuos y que se analiza CAC/GL 41-1993. Roma. 10 p.
28. \_\_\_\_\_. 2011. Codex Alimentarius; manual de procedimiento. 20<sup>a</sup>. ed. Roma. 223 p.
29. \_\_\_\_\_. 2013. Codex Alimentarius; manual de procedimiento. 21<sup>a</sup>. ed. Roma. 216 p.
30. \_\_\_\_\_. 2016. Codex Alimentarius; manual de procedimiento. 25<sup>a</sup>. ed. Roma. 275 p.
31. Fuentes, A.; García, E.; Fernández, I. s.f. Procedimiento de extracción en fase sólida dispersiva QuEChERS para el análisis de plaguicidas. (en línea). Valencia, Universitat Politècnica de València. 8 p. Consultado 15 mar. 2017. Disponible en <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/51363/Extracci%C3%B3n%20PSE%20QuEChERS.pdf?sequence=1>
32. Gavrilescu, M. 2005. Fate of pesticides in the environment and its bioremediation. *Engine Ering in Life Sciences*. 5(6):497-526.
33. Gepp, V.; Mondino, P. 2011. Control químico. (en línea). Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 17 p. Consultado 5 abr. 2017. Disponible en <http://www.pv.fagro.edu.uy/cursos/pvh/DocsPVH/C-QUIMICO.pdf>
34. Gonnet, S.; Bentancur, M. 2004. Método para medir actividad proteolítica de *Fusarium sp.* en harinas de trigo. *Agrociencia* (Montevideo). 8(2):39-44.
35. González, M.; Pioli, R.; Midulla, G. 2001. Fusariosis en trigo; manejo y predicción de la enfermedad. (en línea). Buenos Aires, UBA. Facultad de Agronomía. s.p. Consultado 15 mar. 2017. Disponible en <http://www.fcagr.unr.edu.ar/Extension/Informes%20tecnicos/fusariosistrigo.htm>
36. Google. 2016. Google Earth Pro. (en línea). s.l. s.p. Consultado 17 nov. 2016.

Disponible en

<https://www.google.es/earth/download/thanks.html#os=windows#version=pro#updater=yes>

37. Goswami, R.; Kistler, H. 2004. Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. *Molecular Plant Pathology*. 5(6):515-525.
38. Guerrero, J. 2003. Estudio de residuos de plaguicidas en frutas y hortalizas en áreas específicas de Colombia. *Agronomía Colombiana*. 21(3):198-209.
39. Hajšlová, J.; Zrostlíková, J. 2003. Matrix effects in (ultra) trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices. *Journal of Chromatography A*. 1000 (1-2):181-197.
40. Hoffman, E.; Fernández, R.; Baeten, B.; Cadenazzil, M. 2009. Caracterización de cultivares de trigo, año 2008. (en línea). Paysandú, Facultad de Agronomía. EEMAC. 27 p. Consultado 8 ago. 2016. Disponible en <http://www.eemac.edu.uy/index.php/publicaciones-new/documentos-de-investigacion/jornada-de-cultivos-de-invierno/informes-caracterizacion-trigo-y-cebada/caracaterizacion-de-trigo/99-caracterizacion-de-trigo-2008/file>
41. \_\_\_\_\_; Fassana, N.; Akerman, A. 2015 Caracterización de cultivares de trigo, año 2014. (en línea). Paysandú. Facultad de Agronomía, EEMAC. 40 p. Consultado 8 ago. 2016. Disponible en <http://www.eemac.edu.uy/index.php/publicaciones-new/documentos-de-investigacion/jornada-de-cultivos-de-invierno/informes-caracterizacion-trigo-y-cebada/caracaterizacion-de-trigo/415-informe-caracterizacion-trigo-2014-fagro-2015/file>
42. Hooker, D.; Schaafsma, A.; Tamburic-Ilincic, L. 2002. Using weather variables pre- and post-heading to predict deoxynivalenol content in winter wheat. *Plant Disease Journal*. 86(6):611-619.
43. INIA. GRAS (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Unidad de Agro-clima y Sistemas de Información, UY). s.f. Sigras app. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 17 nov. 2016. Disponible en <http://www.inia.uy/gras/Alertas-y-herramientas/sigras-app>

44. \_\_\_\_\_; INASE (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, UY; Instituto Nacional de Semillas, UY). 2014. Resultados experimentales de la evaluación nacional de cultivares de trigo, cebada, colza; triticale, centeno y trigo doble propósito de los tres últimos años, período 2011-2012-2013. Colonia, Uruguay. 74 p.
45. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 2016. Resultados experimentales de la evaluación nacional de cultivares de trigo, cebada y colza de los tres últimos años, período 2013-2014-2015. Colonia, Uruguay. 77 p.
46. \_\_\_\_\_.; INUMET (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Unidad de Agro-clima y Sistemas de Información, UY; Instituto Uruguayo de Meteorología, UY). 2013. Pronóstico DON en trigo. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 5 mar. 2017. Disponible en <http://www.inia.uy/gras/Alertas-y-herramientas/Pron%C3%B3stico-DON-para-trigo->
47. Krska, R.; Molinelli, A. 2009. Rapid test strips for analysis of mycotoxins in food and feed. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 393(1):67-71.
48. Lechoczki-Krsjak, S.; Tóth, B.; Kótai, C.; Martonosi, I.; Farády, L.; Kondrák, L.; Szabó-Hevér, Á.; Mesterházy, Á. 2008. Chemical control of FHB in wheat with different nozzle types and fungicides. *Cereal Research Communications*. 36(6):677-681.
49. Liddell, C. 2003. Systematics of *Fusarium* species and allies associated with fusarium head blight. In: Leonard, K.; Bushnell, W. eds. *Fusarium head blight of wheat and barley*. St. Paul, Minnesota, American Phytopathological Society (APS). pp. 35-43.
50. McMullen, M.; Jones, R.; Gallenberg, D. 1997. FHB of wheat and barley: a re-emerging disease of devastating impact. *Plant Disease*. 81(12):1340-1348.
51. Magan, N.; Hope R.; Colleate, A.; Baxter, E. 2002. Relationship between growth and mycotoxin production by *Fusarium* species, biocides and environment. *European Journal of Plant Pathology*. 108(7):685-690.
52. Mazzilli, S.; Pérez, C.; Ernst, O. 2007. Fusariosis de la espiga en trigo;

características de la enfermedad y posibilidades de uso de modelos de predicción para optimizar el control químico. *Agrociencia* (Montevideo). 6(1):11-21.

53. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 2011. Una alternativa para optimizar el uso de fungicidas para controlar fusariosis de espiga en trigo. *Agrociencia* (Montevideo). 15(2):60-68. 48.
54. Menniti, A.; Pancaldi, D.; Maccaferri, M.; Casalini, L. 2003. Effect of fungicides on fusarium head blight and deoxynivalenol content in durum wheat grain. *European Journal of Plant Pathology*. 109(2):109-115.
55. MGAP. DIEA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Investigaciones Estadísticas Agropecuarias, UY). 2012. Caracterización de la zafra de trigo 2011-2012. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 17 nov. 2016. Disponible en <http://www2.mgap.gub.uy/portal/page.aspx?2,diea,diea-anuario-2012,O,es,0>,
56. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 2013. Anuario estadístico agropecuario. Montevideo. 270 p.
57. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 2015a. Anuario estadístico agropecuario. Montevideo. 215 p.
58. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 2015b. Evolución de la importación de productos fitosanitarios del período 2005-2015. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 17 nov. 2016. Disponible en [http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/fitosanitarios\\_importaciones\\_2015.xlsx](http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/fitosanitarios_importaciones_2015.xlsx)
59. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 2016. Anuario estadístico agropecuario. 198 p.
60. \_\_\_\_\_. DGSSAA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección General de Servicios Agrícolas, UY). 2013. Inocuidad de la zafra de trigo 2011/12. Residuos de plaguicidas en trigo. Montevideo. 60 p.
61. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 2016. Reglamento técnico de identidad y calidad para el

trigo pan y trigo para panificación; anexo I. (en línea). Montevideo. 7 p.  
Consultado 17 nov. 2016. Disponible en  
[http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/trigo\\_0.pdf](http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/trigo_0.pdf)

62. Montevideo COMM. s.f. Enciclopedia geográfica del Uruguay; importancia económica de la agricultura. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 8 abr. 2016. Disponible en  
<http://www.montevideo.com.uy/enciclopedia/agricult.htm>
63. 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(3):211-218.
64. \_\_\_\_\_.; De Galich, M.; Annone, J.; Polidoro, O. 2003. Enfoque fundamental empírico para estimar la evolución del índice de *Fusarium* en trigo. *Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA)*. 31(3):39-53.
65. MVOTMA. DINAMA; MGAP. DGSSAA (Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente. Dirección Nacional de Medio Ambiente, UY; Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección General de Servicios Agrícolas, UY). 2015. Fichas OdS. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 8 abr. 2016. Disponible en  
[https://www.dinama.gub.uy/indicadores\\_ambientales/?ficha=importacion-de-plaguicidas](https://www.dinama.gub.uy/indicadores_ambientales/?ficha=importacion-de-plaguicidas)
66. Niell, S.; Pareja, L.; Geis Asteggiante, L.; Roehrs, R.; Pizzutti, I.; García, C.; Heinzen, H.; Cesio, V. 2010. Development of methods for multiresidue analysis of rice post-emergence herbicides in loam soil and their possible applications to soils of different composition. *Journal of AOAC International*. 93(2):425-431.
67. NVWA; NRL; EURL-FV (Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority, NL; National Reference for Pesticide Residues in Food and Feed, BE; Reference Laboratories for Residues of Pesticides, BE). 2014. Dutch mini-Luke (“NL-”) extraction method followed by LC and GC-MS/MS for multiresidue analysis of pesticides in fruits and vegetables. s.l. 20 p.
68. Pareja, L. 2012. Estudio de residuos de pesticidas en cultivos de arroz de

Uruguay por métodos analíticos modernos y evaluación de procesos fotoquímicos para la remediación de aguas de campo. Tesis Doc. Qui. Montevideo, Uruguay. Facultad de Química. 367 p.

69. Paullier, J.; Núñez, S.; Arboleya, J.; Leoni, C.; Maeso, D. 2005. Producción integrada en Uruguay. Revista INIA. no. 3: 21-25
70. Paulsen, G.; Shroyer, J. 2008. The early history of wheat improvement in the great plains. *Agronomy Journal*. 100(3):70-78.
71. Pereyra, S.; Stewart, S. 2002. Fusariosis de la espiga en cebada. In: Jornada Técnica Cultivos de Invierno (2002, La Estanzuela, Colonia). Trabajos presentados. Montevideo, Uruguay, INIA. pp. 11-16 (Actividades de Difusión no. 282).
72. \_\_\_\_\_; Díaz de Ackermann, M. 2009. Enfermedades transmitidas por rastrojo en trigo y cebada. In: Jornada Técnica Cultivos de Invierno (2009, La Estanzuela, Colonia). Trabajos presentados. Montevideo, Uruguay, INIA. pp. 25-34 (Actividades de Difusión no. 566)
73. \_\_\_\_\_; Dill-Macky. 2010. *Fusarium* species recovered from wheat and barley grains in Uruguay, pathogenicity and deoxynivalenol content. *Agrociencia* (Montevideo). 14(2):33-44.
74. \_\_\_\_\_; Germán, S. 2012. Manejo de enfermedades en trigo y cebada en un contexto de márgenes reducidos. In: Jornada Técnica Cultivos de Invierno (2012, La Estanzuela, Colonia). Trabajos presentados. Mercedes, Uruguay, INIA. pp. 15-25 (Actividades de Difusión no. 677)
75. \_\_\_\_\_. 2013. Herramientas disponibles para el manejo de dos enfermedades relevantes de la pasada zafra; fusariosis de la espiga en trigo y ramularia en cebada. In: Jornada Técnica Cultivos de Invierno (2013, La Estanzuela, Colonia). Trabajos presentados. Montevideo, Uruguay, INIA. pp. 33-41 (Actividades de Difusión no. 720)
76. \_\_\_\_\_; Acosta, Y. 2014. Guía para manejo de la fusariosis de la espiga en

trigo (en línea). La Estanzuela, Colonia, Uruguay, INIA. 10 p. Disponible en [http://www.inia.uy/Documentos/INIA%20La%20Estanzuela/INIA\\_guia%20manejo%20FE%20trigo%202014\\_web%20\(1\).pdf](http://www.inia.uy/Documentos/INIA%20La%20Estanzuela/INIA_guia%20manejo%20FE%20trigo%202014_web%20(1).pdf)

77. Pérez, A.; Navarro, H; Miranda, E. 2013. Residuos de plaguicidas en hortalizas; problemática y riesgo en México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 29: 45-64.
78. Pérez, C. 2004. Manejo sanitario de cereales de invierno; algunas consideraciones epidemiológicas frente a la próxima zafra. *Cangüé*. no. 25: 34-38.
79. \_\_\_\_\_.; Carameso, L.; Fros, D.; Cadenazzi, M.; Ernst, O. 2009. Manejo sanitario en sistemas sin laboreo; agrónomos o nutricionistas? *In: Simposio Nacional de Agricultura de Secano (1°. , 2009, Paysandú, Uruguay)*. Agricultura de secano. Paysandú, Facultad de Agronomía. EEMAC. pp. 141-160.
80. \_\_\_\_\_.; Hoffman, E.; Viega, L.; Villar, H.; Ernst, O. 2011. Manejo de enfermedades en sistemas agrícolas; mitos y realidades. *In: Simposio Nacional de Agricultura de Secano (2°. , 2011, Paysandú, Uruguay)*. Agricultura de secano. Paysandú, Facultad de Agronomía. EEMAC. p. 14.
81. Pirgozliev, S.; Edwards, S.; Hare, M.; Jenkinson, P. 2002. Effect of dose rate of azoxystrobin and metconazole on the development of fusarium head blight and the accumulation of deoxynivalenol (DON) in wheat grain. *European Journal of Plant Pathology*. 108(5):469-478.
82. Pitt, J. 1996. What are mycotoxins?. *Australian Mycotoxin Newsletter*. 7(4):85-90.
83. Ramírez, M; Chulze, S; Magan, N. 2004. Impact of environmental factors and fungicides on growth and deoxinivalenol production by *Fusarium graminearum* insulates from Argentinean wheat. *Crop Protection*. 23(2):117.
84. Reis, E.; Carmona, M. 2002. Fusariosis del trigo; biología, epidemiología y

estrategias para su manejo. Buenos Aires, Gráfica Condal. 26 p.

85. Rojas, D.; Messina, V.; Sancho, A.; Pesquera, N.; Cristos, D.; Galicio, M.; Ricca, A. 2014. Cuantificación de plaguicidas residuales en granos de maíz (*Zea mays* L.) aplicando técnicas de evaluación residual. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 5(1):1-17.
86. Rossi, C.; González, S. 2008. Calidad de semillas; factores a tener en cuenta para asegurar la siembra de semillas libres de enfermedades. In: Jornada Técnica Cultivos de Invierno (2008, La Estanzuela, Colonia). Trabajos presentados. Colonia, Uruguay, INIA. pp. 71-73 (Actividades de Difusión no. 531).
87. SATA. 2016. Guía para la protección y nutrición vegetal. (en línea). Montevideo, Uruguay. s.p. Consultado 17 nov. 2016. Disponible en <http://www.laguiasata.com/>
88. Schaafsma, A.; Tamburic-Ilicic, L.; Hooker, D. 2005. Effect of previous crop, tillage, field size, adjacent crop, and sampling direction on airborne propagules of *Gibberella zeae*/*Fusarium graminearum*, fusarium head blight severity, and deoxynivalenol accumulation in winter wheat. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 27(2):217-224.
89. \_\_\_\_\_; Hooker, D.; Piñeiro, M.; Díaz de Ackermann, M.; Pereyra, S.; Castaño, J. 2006. Pre-harvest forecasting of deoxynivalenol for regulatory action in wheat grain in Uruguay using readily available weather inputs. In: Njapau, H.; Trujillo, S.; P. van Egmond, H.; Park, D. eds. *Mycotoxin and phycotoxins*. Bethesda, Wageningen Academic. pp. 227-238.
90. Shaner, G.; Leonard, K.; Bushnell, W. 2003. Epidemiology of fusarium head blight of small grain cereals in North America. In: Leonard, K.; Bushnell, W. eds. *Fusarium head blight of wheat and barley*. s.l., Minnesota, University of Minnesota. pp. 84-119.
91. Siri, G.; Ernst, O. 2009. Cambios en el contenido de carbono y nitrógeno del suelo; ¿hacia dónde va el sistema? In: Simposio Nacional de Agricultura de Secano (1º., 2009, Paysandú, Uruguay). Resúmenes. Montevideo, Facultad de Agronomía. pp. 111-124.

92. Strada, J.; Ricca, A.; Conles, M.; Silva, M.; Rojas, D.; Casini, C.; Piatti, F.; Martínez, M. 2012. Evaluación de residuos de plaguicidas en granos de maíz (*Zea mays* L.) y trigo (*Triticum aestivum* L.) posterior a la aplicación en el almacenamiento y en el campo. *Interciencia*. 37(6):412-417.
93. \_\_\_\_\_. 2014. Evaluación del nivel de residuos de plaguicidas en granos de cereales y oleaginosas aplicados en el campo y en almacenamiento en la región central de Argentina. Tesis Dr. en Ciencias Agropecuarias. Córdoba, Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela para Graduados. 217 p.
94. Taverniers, I.; De Loose, M.; Van Bockstaele, E. 2004. Trends in quality in the analytical laboratory: II. Analytical method validation and quality assurance. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 23(8):535-552.
95. Trail, F. 2009. For blighted waves of grain; *Fusarium graminearum* in the postgenomics era. *Plant Physiology*. 149(1):103-110.
96. Turner, J. A. 2015. The pesticide manual. 17<sup>th</sup>. ed. Alton, (BCPC) British Crop Production Council. 1056 p.
97. UE (Unión Europea. Consejo Europeo, BE). 2007. CONSLEG; 1991L0414. (en línea). Brussels. 194 p. Consultado 17 nov. 2016. Disponible en <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1991L0414:20070201:EN:PDF>
98. UE. PE (Unión Europea. Parlamento Europeo, BE); UE (Unión Europea. Consejo Europeo). 2005. Reglamento No. 396/2005. (en línea). Estrasburgo. 16 p. Consultado 17 nov. 2016. Disponible en <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005R0396&from=ES>
99. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 2009. Reglamento No. 1107/2009. (en línea). Estrasburgo. 50 p. Consultado 17 nov. 2016. Disponible en <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:309:0001:0050:Es:PDF>

100. UH (University of Hertfordshire, UK). 2016. PPDB; Pesticide properties database. (en línea). Hertfordshire. s.p. Consultado 17 nov. 2016. Disponible en <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/index.htm>
101. UNA (Universidad Nacional Costa Rica, CR). 2016. Manual de plaguicidas de centroamérica. (en línea). Heredia. s.p. Consultado 17 nov. 2016. Disponible en <http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/>
102. Uruguay XXI. 2015. Informe de agronegocios. (en línea). Montevideo, Uruguay. 40 p. Consultado 8 abr. 2016. Disponible en <http://www.uruguayxxi.gub.uy/informacion/wp-content/uploads/sites/9/2015/06/Informe-Agronegocios-Junio-2015.pdf>
103. Vargas de la Cruz, C. 2012. Adaptación de la metodología analítica para la determinación de residuos de plaguicidas en frutas nativas de exportación mediante Uplc-Ms/Ms. Tesis Químico Farmacéutico. Lima, Perú. UNMSM. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 253 p.
104. Ward, T.; Clear, R.; Rooney, A.; O'Donnell, K.; Gaba, D.; Patrick, S.; Starkey, D.; Gilbert, J.; Geiser, D.; Nowicki, T. 2008. An adaptive evolutionary shift in fusarium head blight pathogen populations is driving the rapid spread of more toxigenic *Fusarium graminearum* in North America. *Fungal Genetics and Biology*. 45(4):473-484.
105. Xu, X. 2003. Effects of environmental conditions on the development of fusarium head blight. *European Journal of Plant Pathology*. 109(7):683-689.

## 10. ANEXOS

Cuadro No. 1. Análisis de varianza de las fuentes de variación bloque y tratamiento en cada variedad para la variable incidencia del año 2015.

F. de V.	Fuste	Baguette 9
Bloque	<0.0328	ns.
Tratamiento	<0.0001	ns.

Cuadro No. 2. Análisis de varianza de las fuentes de variación bloque y tratamiento en cada variedad para la variable porcentaje severidad ( $p < 0,05$ ).

F. de V.	Fuste	Baguette 9
Bloque	<0.0001	ns.
Tratamiento	<0.0001	ns.

Cuadro No. 3. Análisis de varianza de las fuentes de variación bloque y tratamiento en cada variedad para la variable índice de enfermedad ( $p < 0,05$ ) del año 2015.

F. de V.	Fuste	Baguette 9
Bloque	0.0319	ns.
Tratamiento	<0.0001	ns.

Cuadro No. 4. Análisis de varianza de las fuentes de variación bloque y tratamiento en cada variedad para la variable rendimiento/ha ( $p < 0,05$ ) del año 2015.

F. de V.	Fuste	Baguette 9
Bloque	0.0034	0.0012
Tratamiento	ns.	<0.0001

Cuadro No. 5. Análisis de varianza de las fuentes de variación bloque y tratamiento en cada variedad para la variable peso de mil granos ( $p < 0,05$ ) del año 2015.

F. de V.	Fuste	Baguette 9
Bloque	<0.0001	0.0002
Tratamiento	<0.0001	<0.0001

Cuadro No. 6. Resultado de los ANOVA para las variables incidencia, severidad, índice de enfermedad, rendimiento y peso de mil granos del año 2016.

F.V.	Incidencia	Severidad	Índice de enfermedad	Rend.	PMG
Bloque	ns.	ns.	ns.	0.0357	0.0029
Tratamiento	0.0006	0.0468	0.0032	ns.	ns.
Variedad	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0014	<0.0001
Variedad*Tratamiento	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.

Incidencia (CV: 60%), severidad (CV: 60%), índice de enfermedad (CV: 89%), rendimiento (CV: 8,3%) y peso de mil granos (CV: 2,8%); ( $p < 0,05$ ).

Cuadro No. 7. P-valor de los contrastes aplicar o no, grupo químico y momento de aplicación sobre peso de mil granos, rendimiento, % incidencia y % severidad para Baguette 9 en 2015.

BAGUETTE 9			
	Aplicar vs. no aplicar	Benzimid. vs. triaz.	Aplic. Z61 vs. Z65
PMG (g)	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Rend. (kg)	0.0010	<0.0001	0.0296
% Inc.	0.0331	ns.	ns.

%Sev.	ns.	ns.	ns.
-------	-----	-----	-----

Cuadro No. 8. P-valor de los contrastes aplicar o no, grupo químico y momento de aplicación sobre peso de mil granos, rendimiento, % incidencia y % severidad para Fuste en 2015.

FUSTE			
	Aplicar vs. no aplicar	Benzimid. vs. triaz.	Aplic. Z61 vs. Z61 + Z65
PMG (g)	ns.	0.0063	ns.
Rend. (kg)	ns.	0.0004	ns.
%Inc.	0.0485	<0.0001	ns.
%Sev.	ns.	ns.	ns.

Cuadro No. 9. P-valor de los contrastes aplicar o no, grupo químico y momento de aplicación sobre peso de mil granos, rendimiento, % incidencia y % severidad para Baguette 9 en 2016.

BAGUETTE 9			
	Aplicar vs. no aplicar	Benzimid. vs. triaz.	Aplic. Z61 vs. Z61 +Z65
PMG (g)	ns.	ns.	ns.

Rend. (kg)	ns.	ns.	ns.
%Inc.	0.0011	0.00213	ns.
%Sev.	ns.	ns.	ns.

Cuadro No. 10. P-valor de los contrastes aplicar o no, grupo químico y momento de aplicación sobre peso de mil granos, rendimiento, % incidencia y % severidad para Fuste en 2016.

FUSTE			
	Aplicar vs. no aplicar	Benzimid. vs. triaz.	Aplic. Z61 vs. Z61 + Z65
PMG (g)	0.0210	ns.	ns.
Rend. (kg)	ns.	0.0004	ns.
%Inc.	0.0112	0.0358	ns.
%Sev.	ns.	0.0044	ns.

Cuadro No. 11. Características físicas y químicas de carbendazim.

<b>CARBENDAZIM</b>	
<b>Familia</b>	Benzimidazol
<b>Forma física</b>	Polvo cristalino
<b>V.p (mPa)</b>	0,09 (20C) , 0,15 (25C)
<b>log Kow</b>	1,38 (PH 5); 1,49 (PH 9)
<b>Pka (20-25C)</b>	4,2
<b>Henry (Pa m<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup>, calc.)</b>	0,0036
<b>Densidad aparente (20-25C)</b>	1,45
<b>Solubilidad en agua(mg/l, 20-25C)</b>	7,0 (pH 8), 8,0 (pH 7), 29 (pH 4)
<b>Estabilidad</b>	<p>Descompone al m.p estable durante al menos 2 y por debajo de 50 C.</p> <p>Estable después de 7 días a 20000 lux.</p> <p>Lentamente descompuesto en solución alcalina (22C), DT50&gt;350C (pH 5 a 7), 124 d (pH 9)</p> <p>Estable en ácido formando sales solubles en agua</p>
<b>Sitio de acción</b>	Inhibe la síntesis de la beta-tubulina
<b>Espectro</b>	Fungicida sistémico con protector y acción curativa.
<b>Ruta de acción</b>	<p>Absorvido a través de raíces y tejidos verdes con translocación acropeta</p> <p>Inhibición del desarrollo de los tubos germinales, la formación de apresorios y el crecimiento micelial</p>
<b>Usos</b>	<i>Septoria, Fusarium, Erysiphe y Pseudocercospora</i> en cereales
<b>Compatibilidad</b>	Incompatible con materiales alcalinos
<b>Análisis de residuos</b>	Con métodos con benomil o HPLC

Fuente: Turner (2015).

Cuadro No. 12. Características físicas y químicas de Epoxiconazol.

<b>EPOXICONAZOL</b>	
<b>Familia</b>	Triazol
<b>Forma física</b>	Cristales incoloros
<b>V.p (mPa)</b>	< 0,01 (20C)
<b>log Kow</b>	3,33 (pH 7)
<b>Pka (20-25C)</b>	//
<b>Henry (Pa m<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup>, calc.)</b>	<4.71E-4
<b>Densidad aparente (20-25C)</b>	1.384
<b>Solubilidad en agua(mg/l, 20-25C)</b>	6,63
<b>Estabilidad</b>	No se hidroliza a pH 5 y pH 7 dentro de 12 días
<b>Sitio de acción</b>	Inhibición de de la C-14-demetilasa dentro de la síntesis de esterol
<b>Espectro</b>	Amplio espectro
<b>Ruta de acción</b>	Fungicida preventivo y curativo
<b>Usos</b>	Para ascomycetes, basidiomycetes y deuteromycetes en cereales
<b>Compatibilidad</b>	Compatible con carboxamidas y estrobilurinas
<b>Análisis de residuos</b>	Con GC (análisis de producto)

Fuente: Turner (2015).

Cuadro No. 13. Características físicas y químicas de metconazol.

<b>METCONAZOL</b>	
<b>Familia</b>	Triazol
<b>Forma física</b>	Polvo blanco
<b>V.p (mPa)</b>	0,0123 (20C)
<b>log Kow</b>	3,85
<b>Pka (20-25C)</b>	11,38 (base)
<b>Henry (Pa m<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup>, calc.)</b>	2,21 x 10 <sup>-7</sup>
<b>Densidad aparente (20-25C)</b>	1,1
<b>Solubilidad en agua(mg/l, 20-25C)</b>	30,4
<b>Estabilidad</b>	Buena estabilidad térmica e hidrolítica
<b>Sitio de acción</b>	Inhibición de la síntesis de ergosterol
<b>Espectro</b>	Aplicada postemergencia exhibe penetración local y sistemica acropetal.
<b>Ruta de acción</b>	Penetración local y sistemica acropeta
<b>Usos</b>	Controla un amplio rango de enfermedades foliares en cereales
<b>Compatibilidad</b>	//
<b>Análisis de residuos</b>	DFG-S19

Fuente: Turner (2015).

Cuadro No. 14. Características físicas y químicas de tebuconazol.

<b>TEBUCONAZOL</b>	
<b>Familia</b>	Triazol
<b>Forma física</b>	Cristales incoloros
<b>V.p (mPa)</b>	0,0017
<b>log Kow</b>	3,7
<b>Pka (20-25C)</b>	//
<b>Henry (Pa m<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup>, calc.)</b>	1 X10 <sup>-5</sup>
<b>Densidad aparente (20-25C)</b>	1,25
<b>Solubilidad en agua(mg/l, 20-25C)</b>	36,0 (Ph 5-9)
<b>Estabilidad</b>	Estable en altas temperaturas
<b>Sitio de acción</b>	Inhibición de síntesis de ergosterol
<b>Espectro</b>	Sistémico con protector, curativa y acción erradicativa
<b>Ruta de acción</b>	Rápida absorción con traslocación principalmente acropeta
<b>Usos</b>	Para <i>Septoria</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Puccinia</i> , <i>Sclerotium</i> , <i>Alternaria</i>
<b>Compatibilidad</b>	//
<b>Análisis de residuos</b>	GLC en agua, suelo o planta

Fuente: Turner (2015).

Cuadro No. 15. Coeficientes de correlación de pearson entre variables en variedad Baguette 9.

<b>BAGUETTE 9</b>			
Variable 1	Variable 2	Coef. Pearson	P
Índice de enfermedad	PMG	-0,56	<0.0001
Índice de enfermedad	Rendimiento	-0,52	<0.0001
PMG	Rendimiento	0,98	<0.0001

Cuadro No. 16. Coeficientes de correlación de Pearson entre variables en variedad Fuste.

<b>FUSTE</b>			
Variable 1	Variable 2	Coef. Pearson	P
Índice de enfermedad	PMG	-0,65	<0.0001
Índice de enfermedad	Rendimiento	-0,55	<0.0001
PMG	Rendimiento	0,8	<0.0001