

**TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO DE LICENCIADO EN
CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Perfil toxicogénico de cepas de
Fusarium poae aisladas de granos de
trigo en Uruguay**



Marcia Guimaraens Urtiaga

Orientadora: Dra. Dinorah Pan

*Facultad de Ciencias - Sección Micología
2024*

Resumen

Una de las principales enfermedades que afecta el cultivo de trigo en Uruguay y el mundo es la fusariosis de la espiga (FE), la cual es provocada por varias especies de hongos pertenecientes al género *Fusarium*, incluida *Fusarium poae*. Esta enfermedad puede ocasionar pérdidas económicas severas en la cadena agroindustrial como consecuencia de la disminución en los rendimientos del cultivo y una menor calidad del grano y subproductos debido a las micotoxinas producidas por estos hongos. *Fusarium poae* puede producir diversas micotoxinas, entre las que se encuentran los tricotecenos de tipo A y B. Estas micotoxinas son potentes inhibidores de la síntesis de proteínas, ARN y ADN en las células eucariotas ocasionando diversos efectos tóxicos en la salud humana y animal. El objetivo de éste trabajo fue identificar molecularmente y determinar la capacidad toxigénica de cepas aisladas de granos de trigo, que dadas sus características morfológicas se presumía que eran de la especie *F. poae*. Para ello se analizaron 22 cepas obtenidas a partir de granos de trigo provenientes de distintos sitios del Uruguay. Se identificaron molecularmente mediante PCR específica y se determinó la producción de tricotecenos de tipo A (DAS, T-2, HT-2, NEO), tipo B (NIV) y eniantinas. Todas las cepas analizadas fueron identificadas como *F. poae*. El 50% de las cepas fueron productoras de tricotecenos del tipo A y/o B. Además, se evidenció que todas las cepas de *F. poae* analizadas son potencialmente productoras de eniantinas. Estos resultados demuestran la existencia de un alto riesgo toxicogénico en el trigo asociado a la presencia de *F. poae* y constituyen un avance en el conocimiento de esta especie en nuestro país.

ÍNDICE

1. Introducción...	4
1.1 Generalidades del cultivo de trigo...	4
1.2 Fusariosis de la espiga (FE).....	6
1.3 Condiciones que predisponen a la fusariosis de la espiga	8
1.4 Género Fusarium	9
1.5 Fusarium poae.....	10
1.6 Micotoxinas... ..	12
1.7 Principales micotoxinas producidas por Fusarium poae.....	13
1.7.1 Tricotecenos.....	13
1.7.2 Tricotecenos tipo A.....	15
1.7.3 Tricotecenos tipo B.....	17
1.7.4 Micotoxinas emergentes	17
2. Hipótesis	19
3. Objetivo general... ..	19
3.1 Objetivos específicos.....	19
4. Materiales y Métodos.....	19
4.1 Cultivos monospóricos.....	20
4.2 Identificación molecular de F. poae... ..	20
4.2.1 Extracción de ADN... ..	20
4.2.2 PCR específica	21
4.3 Perfil Toxicogénico... ..	21
4.4 Potencial genético de producción de ENNs.....	22
5. Resultados	23
5.1 Identificación molecular... ..	23
5.2 Perfil toxicogénico... ..	23
5.3 Potencial genético de producción de ENNs.....	24
6. Discusión... ..	24
7. Conclusiones.....	26
8. Bibliografía.....	26

1. INTRODUCCIÓN

1.1 GENERALIDADES DEL CULTIVO DE TRIGO

El trigo (*Triticum spp.*) es considerado el principal alimento tanto a nivel mundial como nacional, siendo uno de los cereales más cultivados (Gómez Pallarés et al., 2007), destinándose más de 200 millones de hectáreas y alcanzando una producción mundial de más de 700 millones de toneladas por año (FAO, 2022; Vocke & Allen, 2007).

Su amplia distribución geográfica se debe a su adaptabilidad, ya que es capaz de crecer en ambientes muy extremos y en distintos tipos de suelos. Su gran versatilidad, permite obtener una gran variedad de productos (Bushuk, 1986). El principal destino es el consumo humano y en menor proporción para forraje. Los granos se utilizan para hacer harina, sémola, malta, así como una gran variedad de productos alimenticios derivados de éstos, como pan, galletas, cerveza, whisky, pasta, cereales de desayuno, entre otros (Gómez Pallarés et al., 2007).

El trigo es una planta perteneciente a la clase monocotiledóneas y dentro de la misma a la familia de las Gramíneas. Estas poseen un crecimiento anual y se caracterizan por tener inflorescencia de tipo espiguilla. Producen un fruto seco denominado cariósido, “grano”, el cual está compuesto por el endospermo, que es lo que se utiliza para fabricar harina, el germen y las capas de la cubierta. Se siembra a finales del otoño o principios del invierno y se cosecha a finales de la primavera o a principio del verano (Dewey, 1985).

En nuestro país es el segundo cultivo después de la soja, en cantidad de área sembrada y toneladas cosechadas, siendo en el 2019/2020 de 2178 mil hectáreas y 757.000 toneladas, respectivamente (DIEA, 2020). La única especie que se cultiva en Uruguay es *Triticum aestivum L.*, destinada para panificación. El cultivo de trigo se extiende del S hacia SW de Uruguay. La producción se concentra principalmente en los departamentos de Colonia, Soriano, Paysandú, San José, Río Negro y Flores, existiendo también en otros departamentos con menos superficie cultivada (DIEA, 2017) (Figura 1 y Tabla 1).

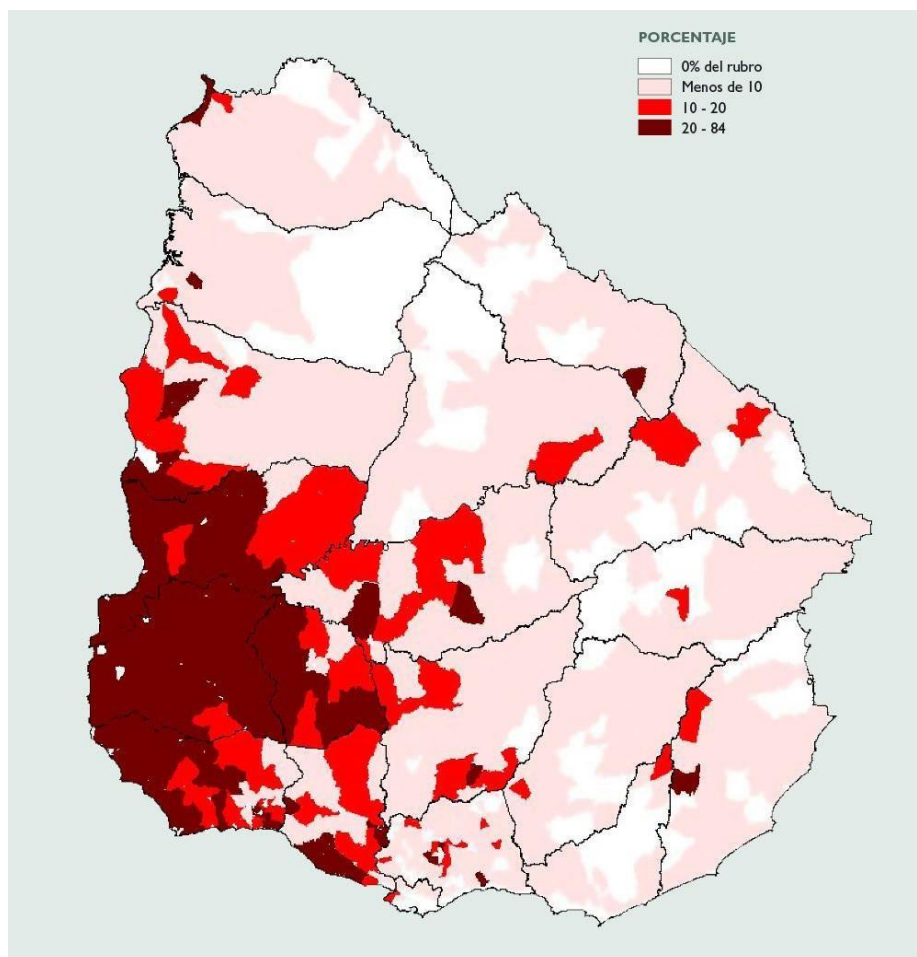


Figura 1. Superficie destinada al cultivo de trigo (DIEA, 2017).

Tabla 1. Superficie sembrada de trigo por departamento en el año 2020 (DIEA, 2020).

Departamento	Superficie sembrada	
	(ha)	%
Total	217.337	100
Colonia	51.610	23.7
Soriano	47.931	22.1
Paysandú	28.904	13.3
San José	26.377	12.1
Río Negro	25.787	11.9
Flores	14.070	6.5
Durazno	9.017	4.1
Artigas	13.641	6.3

La mayor parte de la producción de trigo está destinada al mercado interno para la fabricación de harinas de consumo doméstico, y como insumo para panaderías y fábricas de panificados y pastas (Ernst et al., 2012). Si bien el principal destino es el mercado interno, hay exportaciones en los años en que hay superávit (Souto, 2007).

El trigo, está expuesto a diferentes factores de estrés, los cuales pueden dividirse en abióticos y bióticos. Entre los factores abióticos se encuentran la temperatura, la salinidad del suelo, la sequía y la escasez de nutrientes. Los factores bióticos pueden consistir en infecciones provocadas por hongos, virus, bacterias y nemátodos, entre otros. Dentro de las infecciones provocadas por hongos, las especies del género *Fusarium* generan importantes y diversas enfermedades en los cultivos de trigo (Miller, 2008). Estos factores, tanto abióticos como bióticos, producen graves pérdidas en la producción y en la calidad de los granos de trigo (Sinha, 1995; Setter & Waters, 2003).

1.2 FUSARIOSIS DE LA ESPIGA (FE)

Una de las principales enfermedades que afecta el cultivo de trigo en nuestro país y el mundo es la fusariosis de la espiga (FE). Según el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), la FE es un factor limitante de gran incidencia en la producción de trigo en varias partes del mundo (Xu, 2003). Es por esta razón que la enfermedad ha sido ampliamente estudiada durante las últimas décadas (Parry et al., 1995; Goswami & Kistler, 2004; Dinolfo & Stenglein, 2014; Garmendia et al., 2018; Buerstmayr et al., 2020; Tini et al., 2021; Alisaac & Mahlein, 2023)

Desde el primer registro de la fusariosis en trigo en Estados Unidos en 1891 (Arthur, 1891) la frecuencia de aparición y gravedad de esta enfermedad ha aumentado en todo el mundo, pasando a ser uno de los factores principales en la reducción del rendimiento y calidad de los cultivos (Díaz de Ackermann, 1996; Dubin et al., 1997; Goswami & Kistler, 2004; Shaner, 2003; Tekauz et al., 2000). En nuestro país, el primer registro de FE en trigo data del año 1928 donde se relaciona con la aparición de *Gibberella saubinetii* como agente causal de espigas blancas en los cultivos (Boerger, 1928).

La FE es provocada por especies de hongos del género *Fusarium* siendo las más frecuentes *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum* y *Fusarium poae* (Liddell, 2003; Champeil et al, 2004a). *Fusarium graminearum* es el principal agente etiológico de la FE, siendo las otras especies menos frecuentes (Köhl et al., 2007; Logrieco et al., 2007; Simpson, 2001; Xu et al., 2008).

Esta enfermedad puede ocasionar pérdidas económicas severas en la cadena agroindustrial como consecuencia de la disminución en los rendimientos del cultivo y una menor calidad del grano debido a la contaminación con micotoxinas producidas por los hongos (Díaz de Ackermann et al., 2002). El rendimiento puede verse afectado hasta en un 80%, debido a que *Fusarium* spp. ocasiona una menor tasa de germinación de la semilla y una maduración prematura de los granos generando granos de menor calidad (Figura 2). La interrupción del transporte de agua ocasionada por el crecimiento hifal en el sistema vascular impide que el grano termine de llenarse y esta disminución puede verse reflejada en la decoloración prematura de las espiguillas (Figura 3) (INIA, 2014). En los granos también se observa una reducción en el contenido de almidón, proteínas, celulosa y hemicelulosa, disminuyendo la calidad nutritiva del mismo (Champeil et al., 2004b; Miller, 1994).

En cuanto a los productos panificados, un trigo de buena calidad tiene el potencial de producir el tipo de pan que desea obtener el consumidor. Las especies del género *Fusarium* producen enzimas que ocasionan problemas durante la panificación, generando la obtención de una masa más pegajosa, pan más oscuro y de menor volumen que no puede mantener la forma (Vázquez, 2009).

A pesar de la toma de conciencia a nivel del sector productivo y de los esfuerzos realizados para combatir la enfermedad, en nuestro país, las especies de *Fusarium* responsables de la FE siguen siendo los principales agentes causales de pérdidas en la calidad de los cultivos de trigo y por lo tanto generando consecuencias en su comercialización (Luizzi, 2010).



Fig. 2. Granos de trigo infectados por *Fusarium* sp. (INIA, 2014).



Fig. 3. Decoloración prematura de las espiguillas, pudiendo llegar a tomar toda la espiga (INIA, 2014).

1.3 CONDICIONES QUE PREDISPONEN EL DESARROLLO DE LA FUSARIOSIS DE LA ESPIGA

Existe un conjunto de factores que favorecen la ocurrencia de la enfermedad, es así que, el contacto del patógeno y el hospedante no asegura el desarrollo de la misma. Condiciones ambientales favorables como lluvias frecuentes, temperaturas medias a altas y un alto porcentaje de humedad relativa al momento de la floración y/o durante el llenado del grano favorecen la infección y desarrollo de la enfermedad (Díaz de Ackerman & Pereyra, 2011; Scala et al, 2016; Xu, 2003). A su vez, existen diferencias en los rangos de temperatura y humedad necesarias para la germinación e infección por las diferentes especies fúngicas que causan la FE (Xu & Nicholson, 2009).

Bajo condiciones favorables de humedad y temperatura, las esporas pueden depositarse sobre las espigas de trigo e iniciar el proceso de infección. La planta es principalmente susceptible desde el período de antesis hasta grano pastoso, siendo el primero el período de mayor vulnerabilidad, ya que, la presencia de polen estimula la germinación de esporas y el crecimiento de micelio (De Souza y Formento, 2003; Moschini et al., 2003). Es así que la infección ocurre mayormente en espigas en floración.

Si bien la antesis es la ventana crítica para la infección, se ha observado en trigo, que las infecciones en etapas posteriores, a pesar de poseer un desarrollo de síntomas menor, pueden conducir a un desarrollo significativo del hongo, pudiendo dar lugar a una acumulación significativa de micotoxinas en los granos. (Siou et al., 2014).

Las esporas germinan principalmente en las anteras y a partir de ahí colonizan el ovario, otras estructuras florales y puede extenderse tanto hacia el ápice como hacia la base de la espiga y de espiguilla a espiguilla. La diseminación de la infección se da principalmente por vía vascular y provoca la interrupción del transporte de agua y nutrientes a la espiga, produciendo así, granos de baja calidad y rendimiento (Sykes, 2003).

Se sabe que el momento de la infección es importante para determinar las consecuencias de la enfermedad (Cowger y Arellano, 2010). Las infecciones tempranas, aquellas que se dan al inicio de la floración, generalmente matan las flores y no hay desarrollo de los granos. En cambio, si la infección se da en etapas posteriores, ocasiona la producción de granos arrugados y de menor tamaño que pueden contener micotoxinas. Si la misma ocurre en las etapas finales de llenado del grano, se producen granos de tamaño y forma normales pero que pueden estar contaminados con micotoxinas (Del Ponte et al., 2007).

Las prácticas agrícolas utilizadas también pueden influir en la ocurrencia de la enfermedad (Scala et al, 2016). La presencia de residuos de cultivos infectados en la superficie del suelo es una de las principales fuentes de inóculo, ya que cuando las condiciones ambientales son favorables, permiten el desarrollo y maduración de las esporas que infectan los cultivos, dando inicio a una nueva

infección (Figura 5). También la introducción de genotipos susceptibles y la presencia de otras gramíneas propician el desarrollo de la enfermedad al incrementar significativamente la carga de inóculo en los sistemas de producción (Vorholt, 2012; Leplat et al., 2012).

En nuestro país, la intensificación de la agricultura ha estado acompañada por una menor diversificación en la secuencia de cultivos y la adopción de sistemas de laboreo conservacionistas, donde prácticamente se realiza siembra directa y luego de la cosecha se dejan los residuos del cultivo. Este hecho favorece la sobrevivencia de especies de *Fusarium* en los residuos, ya sea en forma de micelio, clamidosporas y/o ascosporas, y por lo tanto la aparición temprana de la enfermedad. Sumado a lo anterior, la siembra de trigo sobre rastrojo de su propia especie potencia la aparición de nuevas formas de los hongos (patotipos) con mejor adaptación a infectar ese cultivar (Dill-Macky & Jones, 2000; Gale, 2003; Stewart et al., 2001; Pereyra y Díaz, 2009).

Por otro lado, el daño por insectos y lesiones mecánicas también son factores que contribuyen al desarrollo de la FE (Cinar & Onbaşı, 2019; Neme & Mohammed, 2017).

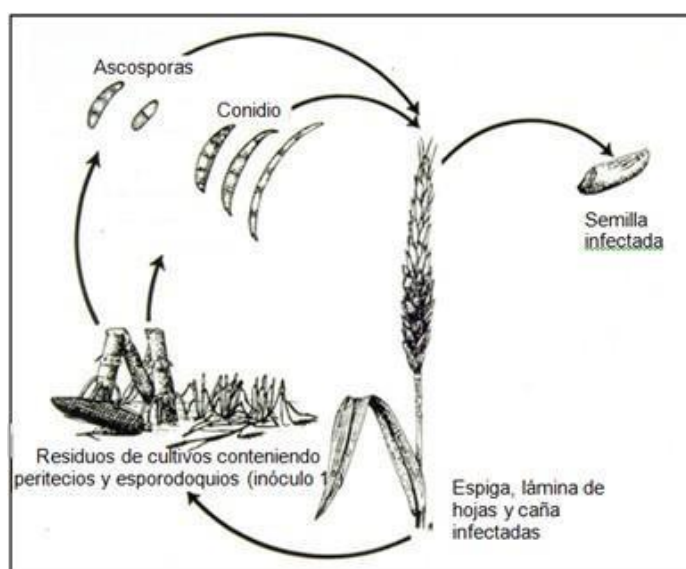


Figura 5. Ciclo de la Fusariosis de la espiga de trigo (Schmale III & Bergstrom, 2003).

1.4 GÉNERO *FUSARIUM*

El género *Fusarium* comprende un amplio y diverso grupo de más de 80 especies dentro del phylum Ascomycota, con un alto grado de variación morfológica, fisiológica y ecológica, pudiendo crecer en diferentes sustratos como, suelo, partes aéreas y subterráneas de plantas, desechos vegetales y otros sustratos orgánicos. Tienen una amplia distribución geográfica la cual puede atribuirse a las características anteriormente mencionadas y además a los eficientes mecanismos de dispersión que este género posee (Leslie & Summerell, 2006; Nelson et al., 1994).

Las estructuras morfológicas características del género *Fusarium* son los conidios (esporas asexuales), las células conidiógenas y las clamidosporas. *Fusarium spp.* puede presentar dos tipos de conidios, los macroconidios que son esporas alargadas, fusiformes y arqueadas con tres o más septos transversales con una célula apical y una célula basal (podal) típicas y bien diferenciadas de las otras células (Figura 5). Estos conidios se forman a partir de fiálides aisladas o agrupadas en estructuras de colores brillantes y mucilaginosas denominadas esporodoquios. Algunas especies pueden producir microconidios unicelulares (o bicelulares) que presentan diferentes formas: fusiformes, ovales, clavadas, entre otras (Figura 5). Son formados a partir de mono o polifiálides y pueden permanecer en cadenas o en cabezuelas (Nelson et al.; 1983; Seifert, 2001; Leslie & Summerell, 2006). Por último, algunas especies de *Fusarium* también pueden presentar clamidosporas, esporas asexuales de resistencia que son producidas en respuesta a condiciones adversas para la supervivencia del hongo. Son de forma redonda de doble pared gruesa, lisa o rugosa (Leslie & Summerell, 2006). Éstas pueden encontrarse solas, en pares, cadenas o grupos.

Dentro del género *Fusarium* existen especies que presentan formas con reproducción sexual conocida. Cuando está presente, producen esporas sexuales denominadas ascosporas en cuerpos fructíferos denominados peritecios.

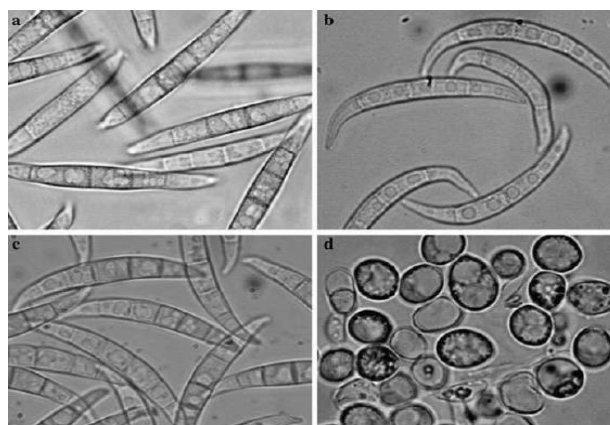


Figura 5. Imágenes microscópicas (x100) de macroconidios de (a) *F. graminearum*, (b) *F. acuminatum*, (c) *F. avenaceum*, (d) Microconidios de *F. poae* (Kikot et. al., 2011).

1.5 FUSARIUM POAE

Fusarium poae es un patógeno que produce un micelio aéreo denso, de color blanco rojizo, variando en intensidad dependiendo de la edad del cultivo. El color del reverso de la colonia puede variar de blanco a amarillo a un rojo carmín o púrpura (Figura 6). Es una especie estable en cultivo y puede producir un aroma frutal característico parecido al amil-acetato (Leslie & Summerell, 2006; Kikot et al., 2011).

Se caracteriza por producir abundantes microconidios de forma oval a piriforme (Figura 7), de 5-10 μm de longitud y 5-8 μm de ancho aproximadamente. Los macroconidios se observan con menor frecuencia, tienen forma de hoz con una célula basal en forma de pie y pueden tener de 2 a 5 septos. Sus medidas son: 18-38 μm de longitud y 3,5-7 μm de ancho. Las clamidosporas se disponen en grupos o cadenas y son poco frecuentes de observar, por lo general se aprecian en cultivos de edad avanzada. Esta especie no posee fase sexual conocida (Barreto et al., 2004; Leslie & Summerell, 2006; Refai & Hassan, 2015).

Si bien *F. poae* ha sido considerado un patógeno débil para los cultivos de cereales comparado con *F. graminearum*, en los últimos años ha aumentado su presencia en ciertas partes de Europa como Inglaterra, Hungría, Polonia, Eslovaquia, Escocia, Francia, Polonia y Gales, siendo el principal causante de FE cuando las condiciones climáticas no son las adecuadas para el crecimiento de *F. graminearum* (Covarelli et al., 2015a; Logrieco et al., 2002; Lukanowski & Sadowski 2002; Roháček & Hudec 2005; Xu et al., 2005). Este aumento se debe a una mayor adaptabilidad a condiciones frías y húmedas donde otras especies de *Fusarium* se ven menos favorecidas (Covarelli et al., 2012). En nuestro país, si bien el principal agente causal de la FE es *F. graminearum*, estudios realizados por Pereyra et al., 2003, 2006 y Garmendia et al., 2018 han identificado otras especies como agentes causales de FE en granos de trigo y cebada, entre ellas *F. poae*.

Otra característica importante de esta especie es su capacidad de producir micotoxinas que contaminan los granos de trigo afectando su inocuidad (Stenglein et al., 2009).



Figura 6. Colonia de *F. poae* en medio de cultivo PDA (Summerell et al., 2003).

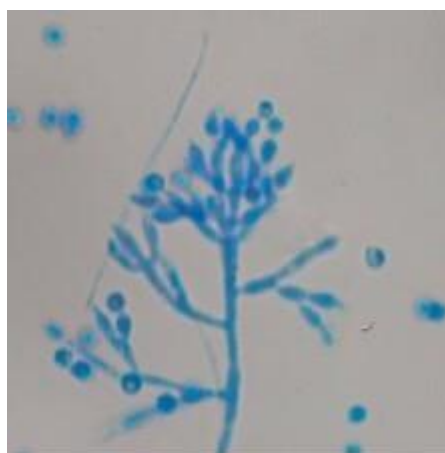


Figura 7. Microconidios y células conidiógenas de *F. poae* (Malaissi, 2016).

1.6 MICOTOXINAS

Las micotoxinas son metabolitos secundarios de bajo peso molecular producidos por hongos filamentosos, principalmente pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium* y *Penicillium* (Rasmussen, et. al., 2010). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), cada año el 25% de los granos de cereales se encuentran contaminados por micotoxinas (Sun et. al., 2020).

Se han identificado más de 300 micotoxinas. La investigación de las mismas se centra principalmente en aquellas que se encuentran con mayor frecuencia contaminando los cultivos y que han demostrado tener diversos efectos en la salud de los seres humanos y animales (Bryden, 2012; Capriotti et al., 2012).

Los humanos y animales pueden estar expuestos a las micotoxinas vía ingestión, contacto con la piel o inhalación, pudiendo provocar intoxicaciones agudas o crónicas denominadas micotoxicosis (Paterson & Lima, 2010; Sweeney & Dobson, 1998). La ingestión es la principal vía de intoxicación y se puede producir directamente a través del consumo de alimentos contaminados (ej: cereales), o indirectamente a través de la ingesta de productos de origen animal como leche, huevos o carne que proceden de animales alimentados con dietas contaminadas, donde ocurre una transferencia parcial de las micotoxinas a los animales (Capriotti et al., 2012).

Las micotoxicosis agudas ocurren cuando se ingieren alimentos con concentraciones relativamente altas de micotoxinas, provocando la aparición de síntomas específicos como hemorragias, necrosis, daños neurológicos, hepáticos, gastrointestinales, renales y pulmonares que pueden provocar la muerte (Steciow, 2011; Sweeney & Dobson, 1998). Mientras que las micotoxicosis crónicas se producen por la ingesta prolongada en el tiempo de concentraciones bajas de micotoxinas. Los síntomas asociados pueden no ser específicos y pueden confundirse con otras enfermedades. Algunos ejemplos de los efectos tóxicos crónicos son carcinogénesis, teratogénesis, inmunosupresión y cuadros clínicos de neurotoxicidad, nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, mielotoxicidad y toxicidad pulmonar y endocrina (Dunière et al., 2013; Hussein & Brasel, 2001).

Si bien el crecimiento del hongo toxigénico es esencial para la producción de micotoxinas, esto no implica necesariamente la producción de las mismas, se requieren condiciones específicas de temperatura, humedad, pH, oxígeno y composición del sustrato (Thouvenot, 2002). Cabe destacar que la infección de los cultivos por parte del hongo y por ende la producción de micotoxinas puede ocurrir en cualquier etapa del proceso productivo, desde su desarrollo en el campo, la cosecha, el transporte o durante el almacenamiento de los granos (Mallmann & Dilkin, 2011).

El tipo y la cantidad de micotoxinas producidas varía además según la especie y la cepa fúngica y puede verse afectada por la interacción entre microorganismos (Magan et al., 2002).

Las toxinas son resistentes a altas temperaturas, y a largos períodos de almacenamiento, por lo que no se degradan totalmente durante el procesamiento de los alimentos. Pueden entonces presentarse tanto en materias primas (granos), como en subproductos (harina, panificados, etc) o en productos de origen animal (carne, leche, huevos) (Kosicki et al, 2016; Gilbert, 2000).

1.7 PRINCIPALES MICOTOXINAS PRODUCIDAS POR *FUSARIUM POAE*

Las especies de *Fusarium* producen principalmente tres clases de micotoxinas: tricotecenos, zearalenona y fumonisinas, siendo *F. poae* un importante productor de tricotecenos (Tan, 2010).

1.7.1 TRICOTECENOS

Los tricotecenos comprenden un grupo de metabolitos que contienen un grupo epoxi el cual es responsable de su actividad tóxica (Ehrlich & Daigle, 1987). Poseen bajo peso molecular y una elevada termoestabilidad. La estructura común que comparten es tetracíclica, con un sistema de anillo sesquiterpenoide (2,13-epoxytrichothec-9-eno). Según sus grupos funcionales característicos, los tricotecenos generalmente se clasifican en dos tipos: A y B (Li et al., 2011).

La biosíntesis de los mismos se da a partir de la conversión de un precursor común para todos, el farnesil pirofosfato. Éste se convierte en tricodieno mediante la actividad de la tricodieno sintasa (Figura 8) (McCormick et al., 2011).

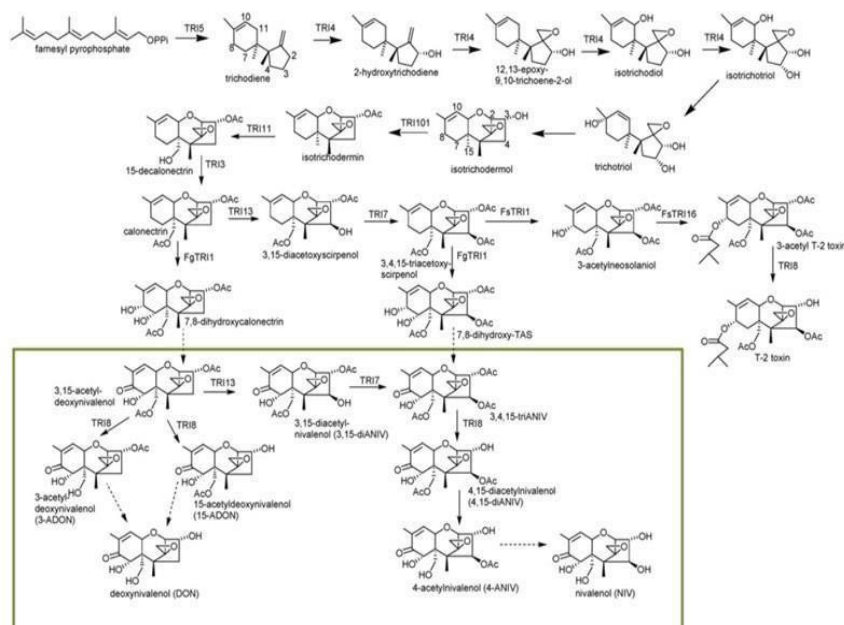


Figura 8. Ruta biosintética de tricotecenos y genes asociados (McCormick et al. 2011).

Tabla 2. Estructura de tricotecenos de tipo a y b (Stenglein, 2009)

Tipo	Tricoteceno	Abbr.	R1	R2	R3	R4	R5
A	T-2	T-2	OH	OAc	OAc	H	OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂
	HT-2	HT-2	OH	OH	OAc	H	OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂
	Neosolaniol	NEO	OH	OAc	OAc	H	OH
	Diacetoxyscirpenol	DAS	OH	OAc	OAc	H	H
B	Deoxynivalenol	DON	OH	H	OH	OH	=O
	Nivalenol	NIV	OH	OH	OH	OH	=O
	3-Acetyldeoxynivalenol	3-ADON	OAc	H	OH	OH	=O

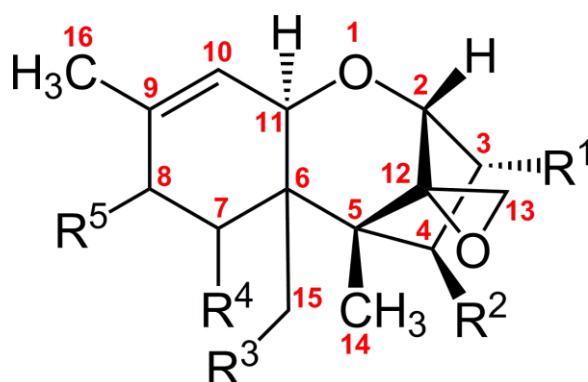


Figura 9. Estructura básica de los tricotecenos (Malaissi, 2016).

La presencia o ausencia del grupo carbonilo en la posición C-8 es la principal diferencia estructural entre el tipo A y el tipo B. Mientras que los tricotecenos de tipo A (Figura 9) no tienen grupo carbonilo en la posición C-8, el tipo B si lo tiene (Tan, 2010).

Entre los del tipo A se encuentran la toxina T-2, HT-2, neosolaniol (NEO) y, diacetoxyscirpenol (DAS). Mientras que deoxynivalenol (DON), nivalenol (NIV), fusarenona-X (FUS) y sus derivados comprenden los tricotecenos del tipo B (Li et al., 2011).

Son potentes inhibidores de la síntesis de proteínas en las células eucariotas (Proctor et al., 1995; Marasas et al., 1984). Es así que son tóxicos para los seres humanos, otros mamíferos, aves, peces, plantas, entre otros (Escriva, 2015).

Todos los tricotecenos, una vez ingeridos, son en general, rápida y parcialmente digeridos en el intestino delgado por transporte pasivo vía ruta paracelular, es decir a través del espacio intercelular existente entre las células epiteliales. Desde ahí pasan al sistema circulatorio donde se distribuyen rápidamente a varios órganos y tejidos del cuerpo debido a su bajo peso molecular y

naturaleza anfipática (Agriopoulou et al., 2020; Singh & Mehta, 2020). Aunque los diferentes tricotecenos difieren en su toxicidad, tienen características comunes entre las que se encuentran: la inhibición de la síntesis de macromoléculas, en particular la síntesis de proteínas, la inducción de apoptosis y/o necrosis, inmunosupresión y lesiones de órganos que a menudo están relacionadas con la peroxidación de lípidos (Akbari et al., 2016).

1.7.2 TRICOTECENOS TIPO A

El mecanismo de toxicidad de los tricotecenos tipo A consiste en su interacción con la unidad ribosomal 60s, lo cual genera la separación de la subunidad rRNA 28s, la inhibición de los procesos de elongación y la activación de proteínas inactivadoras de ribosomas (RIPs), provocando estrés ribotóxico y daños en el rRNA. Esto a su vez, provoca la inhibición del proceso de traducción y de la síntesis de proteínas, generando así, inhibición de la síntesis de ADN y ARN y alteración en la división celular (Bin et al., 2011).

Los tricotecenos clasificados como tipo A (T2, HT2, DAS y NEO) son considerados los más tóxicos dentro de los tricotecenos (Salas et al. 1999).

T-2 y HT-2

La toxina T-2 y su forma desacetilada HT-2 (carente del grupo acetilo en C-4) (Figura 10), actúa, al igual que los demás tricotecenos, inhibiendo la síntesis de proteínas, y en altas concentraciones la síntesis de ADN y ARN. Esta toxina es uno de los tricotecenos de mayor toxicidad aguda en seres humanos y animales (Escrivá et al., 2015). La misma es sintetizada principalmente por *F. poae* y otras especies de *Fusarium* como *F. sporotrichoides*, *F. langsethiae*, *F. equiseti* y *F. acuminatum* (Li et al., 2011; Wu et al., 2010). Se encuentra con frecuencia en cereales como avena, cebada, trigo, maíz, arroz y sorgo (Xu et al., 2018).

Los efectos tóxicos incluyen retraso del crecimiento, pérdida de peso, diarrea, hemorragia, letargo, cambios patológicos en hígado y estómago, disminución de las células sanguíneas, lesiones necróticas en los sitios de contacto, efectos neurotóxicos en aves de corral y hasta la muerte. También puede provocar inmunosupresión ya que reduce la respuesta proliferativa de linfocitos y altera el proceso de maduración de las células dendríticas (Marin et al., 2013; Rocha et al, 2005).

La exposición de animales y humanos a las toxinas HT-2 y T2 desencadena transformaciones metabólicas, que generalmente están bien caracterizadas para varias especies como roedores, cerdos, pollos y ganado vacuno (Wu et al, 2013).

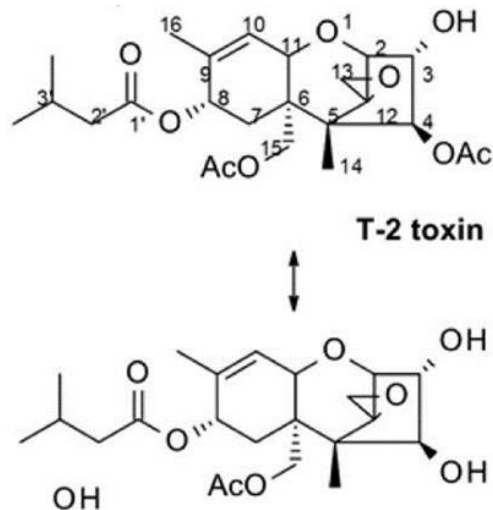


Figura 10. Estructura molecular de las toxinas T-2 y HT-2 (Nathanail et. al., 2015).

Diacetoxyscirpenol (DAS)

Si bien no es uno de los tricotecenos con mayor toxicidad, es de importancia ya que frecuentemente se produce junto a otros tricotecenos. Esta toxina es un derivado del escirpentriol, y causa efectos como trastornos en el crecimiento, inmunotoxicidad, hematotoxicidad, trastornos pulmonares y efectos cardiovasculares (Yang et al., 2015). Esta micotoxina, al igual que los demás tricotecenos, puede inhibir la síntesis de proteínas y ADN, y puede inducir lesiones orales y gastrointestinales, diarrea y reducir la ingesta de alimento en varias especies como cerdos, pollos, conejos, perros, terneros, etc. (Wu et al., 2010). Se ha observado que las lesiones bucales causadas por DAS en pollos son más graves que las ocasionadas por T-2 (Bernhardt et al., 2016).

DAS es sintetizado principalmente por las especies *F. poae* y *F. sporotrichioides* (Omurtag, 2008). DAS exhibe menor toxicidad que T-2 y también podría transformarse a partir de T-2 en animales (Sheng et al., 2018).

Neosolaniol (NEO)

Neosolaniol (NEO) es estructuralmente similar a DAS (Zhang et al., 2017). Los efectos tóxicos de esta micotoxina fueron inicialmente estudiados en animales por Lamprecht et al. 1989, donde ocasionó la muerte de todas las aves testadas en tiempos medios de 7 días o menos, según los diferentes niveles de NEO. En plantas, mostró efectos citotóxicos a altas concentraciones. Un estudio más reciente realizado por Xue et al. 2018, concluyó que NEO suprime la biosíntesis de proteínas al interferir en la transcripción del ADN y la traducción del ARN, alterando la división celular y el correcto funcionamiento de la membrana celular y mitocondrias.

Sheng et al. (2018) evaluaron el potencial anoréxico de T-2, HT-2, DAS y NEO en ratones y demostraron que todas estas toxinas indujeron respuestas anoréxicas después de la exposición oral e intraperitoneal.

1.7.3 TRICOTECENOS TIPO B

Dentro de los tricotecenos del tipo B se encuentran: DON y sus derivados acetilados 3-acetil DON (3acDON) y 15-acetil DON (15acDON) y NIV, siendo DON y NIV los encontrados con mayor frecuencia en los granos (Streit et al., 2013).

Los mismos actúan uniéndose a la subunidad 60S de los ribosomas como consecuencia de la interacción con la enzima peptidil transferasa, activando así rápidamente las proteínas quinasas, pudiendo ocasionar la inhibición de la formación de enlaces peptídicos y la supresión de la biosíntesis de ADN en eucariotas. Sumado a lo anterior, pueden inhibir la función mitocondrial y reducir la multiplicación celular (Khaneghah et al., 2018; Arunachalam & Doohan, 2013).

Nivalenol (NIV)

Es un potente inhibidor de la síntesis proteica y de la síntesis de ARN y ADN en células de mamíferos, y puede causar necrosis de células especialmente de tejidos de rápido crecimiento como células epiteliales, intestinales y órganos linfoides (Alassane-Kpembé et al., 2014, Nagashima et al., 2006).

Con respecto a su toxicidad en animales, NIV es más tóxico que el DON (Wu et al., 2012) pero por lo general la contaminación de cereales con NIV suele ser menos frecuente que con DON (Lindblad et al., 2013; Fels-Klerx et al., 2012). Sin embargo, cuando esta toxina se presenta, lo hace junto a otras micotoxinas entre las que se encuentran DON, DAS y T2 (Covarelli et al., 2015a; Schollenberger et al., 2012).

NIV se ha identificado como el tricoteceno de tipo B que puede ser potencialmente producido por *F. poae*, siendo considerada como la principal especie productora de NIV (Salas et al., 1999).

1.7.4 MICOTOXINAS EMERGENTES

Fusarium poae también es responsable de producir otro grupo de toxinas, las llamadas micotoxinas emergentes de *Fusarium*, denominadas así porque fueron descubiertas con

posterioridad a otras micotoxinas producidas por este género (Ramos, 2018). Dentro de este grupo, *F. poae* es capaz de producir: eniatinas (ENNs), beauvericina (BEA), fusaproliferina (FUS) y moniliformina (MON) (EFSA, 2014; Jestoi et al., 2008; Thrane et al., 2004). En la actualidad se dispone de poca información sobre la presencia de estas toxinas en alimentos y su toxicidad en comparación con las micotoxinas descritas anteriormente. Sin embargo, existe un creciente interés debido a su posible impacto negativo en la salud humana y animal. Además son escasos los estudios sobre los posibles efectos aditivos o sinérgicos que pueden presentar al interactuar con otras micotoxinas o entre ellas (Fernández Blanco et al., 2016; Santini et al., 2009). Según Richardson et al., 1989, la producción de múltiples micotoxinas por una misma cepa parece ser más frecuente que la producción de una sola.

Eniantinas (ENNS)

Son sintetizadas por algunas especies de *Fusarium*, incluido *F. poae* (Supothina et al., 2004; Thrane et al., 2004). Las mismas se han encontrado principalmente en avena, cebada, trigo, centeno, maíz y piensos (Ramos, 2018).

En la literatura hay principalmente descritas 4 eniatinas, la eniatina A (ENN A), eniatina A1 (ENN A1), eniatina B (ENN B) y eniatina B1 (ENN B1), según la naturaleza del residuo del ácido N-metilamino (Ivanova et al., 2014). Sin embargo existen otros análogos que también han sido identificados, como son las ENNs B2, B3, B4, D, E, F y G (Mahnine et al., 2011).

In vitro se ha demostrado que presentan propiedades antibacterianas (contra *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y bacterias del ácido láctico) (Kabak et al., 2006), insecticidas, fitotóxicas y citotóxicas (Morrison et al., 2002). Con respecto a la actividad citotóxica, ésta se ha probado en varios mamíferos y en varios tipos de células cancerígenas a bajas concentraciones (Meca et al., 2010). Además, se ha observado efecto sinérgico de la combinación de varias ENNS (Lu et al., 2013).

La ENN B puede aumentar la tasa de mutación y producir efectos genotóxicos en fibroblastos pulmonares de hámster chino (Föllmann et al., 2009). Cuando estas toxinas son ingeridas en dosis grandes, se ha observado en vacas una fermentación ruminal reducida (Sotnichenko et al., 2019).

También se ha observado que las ENNS presentan propiedades antifúngicas (frente a *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *Beauveria bassiana*, *F. verticilloides*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *F. poae*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *Penicillium expansum* y *Trichoderma harzianum*) (Meca et al., 2010).

Dada su naturaleza lipofílica, estas toxinas pueden bioacumularse en los tejidos, por lo que es necesario seguir estudiando su toxicocinética (Ramos, 2018). A pesar de lo anteriormente mencionado, no existe ninguna regulación para controlar la presencia de ENN en los alimentos.

2. HIPÓTESIS

Las cepas de *F. poae* aisladas de granos de trigo son productoras de micotoxinas.

3. OBJETIVO GENERAL

Determinar el perfil toxicogénico de cepas de *F. poae* aisladas de granos de trigo.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar molecularmente las cepas de *F. poae* aisladas de granos de trigo.
- Determinar la capacidad de producción de tricotecenos de tipo A (DAS, T-2, HT-2, NEO) y tipo B (NIV) de las cepas de *F. poae* identificadas.
- Conocer el potencial genético de producción de ENNs que presentan los aislamientos de *F. poae*.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 22 cepas identificadas morfológicamente como *F. poae* obtenidas a partir de granos de trigo provenientes de distintos sitios del Uruguay depositadas en la colección de hongos de la Sección Micología (Tabla 3). Los cultivos se mantienen en glicerol al 10% a -80°C.

Tabla 3. Procedencia de las diferentes cepas de *F. poae*.

CEPA	Procedencia
Fp 1	Río Negro
Fp 2	Río Negro
Fp 3	Colonia
Fp 4	Colonia
Fp 5	Colonia
Fp 6	Colonia
Fp 7	Colonia
Fp 8	Colonia
Fp 9	Colonia
Fp 10	Colonia
Fp 11	Colonia
Fp 12	Colonia
Fp 13	Colonia
Fp 14	Colonia
Fp 15	Colonia
Fp 16	Paysandú
Fp 17	Paysandú
Fp 18	Paysandú
Fp 19	Soriano
Fp 20	Soriano
Fp 21	Soriano
Fp 22	San José

4.1 CULTIVOS MONOSPÓRICOS

Para ello se sembró una suspensión de conidios en agua/tween 20 al 0,1% en placas de Petri conteniendo medio Agar Agua 2% (AA: agar 20 g, 1000 ml agua destilada) y se incubó durante 24 hs a 25°C en oscuridad para permitir la germinación de los conidios. Luego, bajo microscopio estereoscópico (10X) y con ayuda de una aguja histológica estéril, se realizó la transferencia de un conidio germinado a placas de Petri conteniendo medio Agar Papa Dextrosa (APD: filtrado de 250 g de papas, dextrosa 20 g, agar 20 g, 1000 ml agua destilada) y se incubó a 25°C en estufa con fotoperiodo de luz-oscuridad de 12 hs durante 7 días. Los cultivos puros obtenidos fueron conservados en glicerol al 10% a -80 °C e incorporados a la colección de la Sección Micología.

4.2 IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE *F. POAE*

4.2.1 Extracción de ADN

Los cultivos monospóricos de *F. poae* se inocularon en Erlenmeyer de 250 ml conteniendo 50 ml de medio líquido YEPD (extracto de levadura 10 g, peptona 20 g, dextrosa 20 g y agua destilada 1000 ml) y se incubaron durante 48 horas a 25°C en agitación a 150 rpm. Transcurrido el tiempo de incubación los micelios crecidos se filtraron a través de papel Whatman N° 1 mediante embudo Büchner y se dejaron secar en papel estéril bajo campana. Luego, los micelios secos se molieron con nitrógeno líquido y se realizó la extracción del ADN genómico siguiendo la metodología propuesta por Leslie & Summerell (2006) con algunas modificaciones. Se colocó en un tubo Eppendorf 1/3 de micelio pulverizado y se adicionaron 1000 µl de CTAB 10X (CTAB 10% [m/vol], Tris HCl pH 8, 100 mM, NaCl 1,4 M, EDTA 20 Mm, β-mercaptoetanol 0,2% [vol/vol]) y 1 µl de β-mercaptoetanol y se llevó a incubación en baño seco a 60°C durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo se adicionaron 600 µl de solución de cloroformo-isoamílico (12:1) y se centrifugó a 12000 rpm durante 5 minutos. Posteriormente la fase superior fue recuperada y se precipitó el ADN mediante el agregado de 500 µl de isopropanol y 10% de acetato de sodio 3M. Luego se centrifugó a 12000 rpm por 10 minutos, se removió el sobrenadante, se lavó el pellet de ADN con 200 µl de etanol 70% y se centrifugó nuevamente a 12000 rpm durante 5 minutos. Finalmente el pellet se secó en termocupla a 45°C durante 30 minutos y se resuspendió en 100 µl de agua MiliQ libre de ADNsa y se adicionó 1 µl de RNAsa dejándose a 37°C durante 1 h. La calidad del ADN se visualizó en geles de agarosa 1% conteniendo el colorante GoodView TM y la concentración y pureza (relación 260/280 nm) se determinó por espectrofotometría en NanoDrop Lite, Thermo Scientific®, EEUU.

4.2.2 PCR específica para *F. poae*

Para la identificación molecular de los aislamientos se realizó una PCR con los cebadores específicos Fp82F 5'-CAAGCAAACAGGCTCTTCACC-3' y Fp82R 5'-TGTTCCACCTCAGTGACAGGTT-3' según Dinolfo et al., 2010. Estos cebadores dan un producto de amplificación para *F. poae* de 220 pb. Para la reacción de amplificación se utilizaron 20 ng de ADN fúngico, 5 µl de Buffer 10x, 5 µl de MgCl₂ (25 mM), 1,5 µl de cada cebador (10 µM), 4 µl de dNTP (2,5 µM) y 0,25 µl de Taq polimerasa Thermo Scientific® (5 U/µl) en un volumen final de 50 µl. La amplificación consistió en un paso de desnaturalización a 95°C durante 30 segundos seguida por 25 ciclos de 95°C por 30 segundos, 62°C por 30 segundos, 72°C por 45 segundos, y uno de extensión final de 5 minutos a 72°C. La amplificación se realizó en un termociclador MultiGene Optimax, Labnet international Inc., EEUU. Los productos de amplificación se visualizaron bajo luz UV luego de una electroforesis en gel de agarosa (1%), conteniendo el colorante GoodView TM. El tamaño de los amplicones se estimó por comparación con un marcador de peso molecular de 1000 pb Thermo Scientific, Invitrogen C.O., U.S.A.

4.3 PERFIL TOXICOGÉNICO

Para la determinación del perfil toxicogénico se usaron bolsas conteniendo 50 g de arroz y 20 ml de agua destilada, previamente esterilizadas en autoclave, las cuales se inocularon con 3 discos de agar de 1cm de diámetro conteniendo micelio provenientes de cada cultivo monospórico de *F. poae*. Las bolsas se incubaron a 25 °C en oscuridad durante 15 días y 7 días a 15 °C.

Para la extracción de NIV (tipo B) se utilizó la metodología de Álvarez et al., 2009. Se tomaron 15 g del arroz inoculado molido, se le agregaron 40 ml de acetonitrilo-metanol (14:1) y se homogeneizaron en agitador mecánico a 150 rpm durante 2 horas a temperatura ambiente. Esta solución se filtró a través de papel de filtro Whatman N°1 y 2 ml del filtrado se pasaron por una columna de limpieza alúmina-carbón activado (20:1). Se tomaron 2 ml, se dejaron evaporar hasta sequedad y se resuspendió en 300 µl de tolueno-acetonitrilo (90:10). Para detectar la presencia de estos tricotecenos se procedió a realizar una cromatografía en capa fina (TLC) utilizando placas de sílica gel Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Germany. Se sembraron 10 µl de cada extracto a analizar y 10 µl de una solución de 100 mg/µl del estándar de NIV (Trilogy® Analytical Laboratory, Missouri, United States). La fase móvil utilizada fue cloroformo:acetona:2-propanol (8:1:1). El revelado se realizó rociando las placas con cloruro de aluminio al 20% en etanol: agua (1:1) a 121°C durante 7 minutos para observarse luego bajo luz UV.

Para determinar la capacidad de producción de los tricotecenos T-2, HT-2, DAS y NEO (tipo A), se siguió la metodología descrita por Molto et al., 1997. Para ello, a 15 g del arroz inoculado con *F. poae* se le adicionaron 50 ml de acetonitrilo: agua (42:8) y se agitaron a 150 rpm durante 48 horas a temperatura ambiente. El producto resultante se filtró a través de papel de

Whatman N°1 y se tomaron 2 ml que luego se pasaron a través de una columna de limpieza. Las columnas se elaboraron utilizando jeringas de 2.5ml, donde se colocó 1 cm de fibra de vidrio compactada mecánicamente, 500 mg de alúmina-carbón activado (20:1) y 2 mm adicionales de fibra de vidrio. Una vez filtrado el extracto se tomaron 2 ml y se dejaron evaporar hasta sequedad para luego identificar la producción de T-2, HT-2 mediante cromatografía en capa fina (TLC). El residuo seco se disolvió en 100µL de tolueno-acetonitrilo (95+5) y se sembraron 10 µL de cada extracto a analizar y 10 µl de una solución de 100mg/µl del estándar de T-2, HT-2 y DAS (Trilogy® Analytical Laboratory, Missouri, United States) en placas de sílica gel Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Germany. La placa se desarrolló con cloroformo hasta 1cm del borde superior y se dejó secar al aire (en este paso no hay desplazamiento de los analitos pero se eluyen interferencias mejorando la sensibilidad del procedimiento). Luego se desarrolló la placa con tolueno-acetato de etilo-ácido fórmico (5:4:1) hasta 1cm del borde superior y se dejó secar al aire. El revelado de los tricotecnos producidos se realizó rociando las placas con cloruro de aluminio al 20% en etanol: agua (1:1) a 121°C durante 7 minutos para observarse luego bajo luz UV.

4.4 POTENCIAL GENÉTICO DE PRODUCCIÓN DE ENNS

Para determinar el potencial genético de las cepas de producir ENNs se amplificó la región del gen *esyn1*, codificante de la enzima multifuncional enniantina sintasa para *F. poae*, mediante los cebadores: *esyp1* GGCCTTGAGCCATCCAGATC y *esyp2* CTCGTTGGTAGCCTGCGATCG, según la metodología propuesta por Kulik et al., 2007. Estos cebadores dan un producto de amplificación para las cepas de *F. poae* potencialmente productoras de ENNs de 273 pb. Como control negativo se utilizó la cepa *F. sporotrichioides* (F95). Para la reacción de amplificación se utilizaron 20 ng de ADN fúngico, 5 µl de Buffer 10x, 5 µl de MgCl₂ (25 mM), 1,5 µl de cada cebador (0 µM), 4 µl de dNTP (2,5 µM) y 0,25 µl de Taq polimerasa Thermo Scientific® (5 U/µl) en un volumen final de 50 µl. La amplificación consistió en un paso de desnaturalización a 94°C durante 5 minutos seguida por 20 ciclos de 92°C por 10 segundos, 65°C por 30 segundos, 72°C por 55 segundos y una extensión final de 3 minutos a 72°C. La amplificación se realizó en un termociclador MultiGene Optimax, Labnet international Inc., EEUU. Los productos de amplificación se visualizaron bajo luz UV en gel de agarosa (1%) conteniendo el colorante GoodView TM, y su tamaño fue estimado por comparación con un marcador de peso molecular de 1000 pb Thermo Scientific, Invitrogen C.O., U.S.A.

5. RESULTADOS

5.1 Identificación molecular

Todas las cepas (n=22) amplificaron una sola banda de 220 pb lo que permitió identificarlas como *F. poae*.

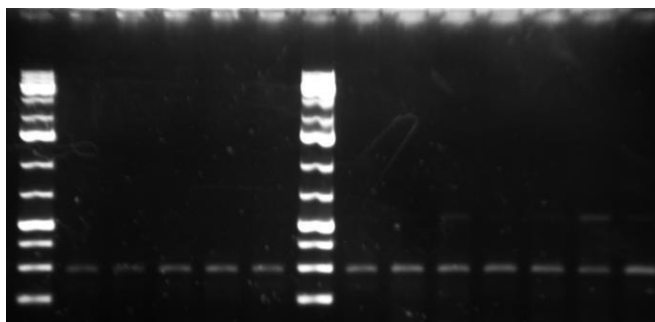


Figura 12. Productos de amplificación obtenidos en la PCR específica para las cepas de *F. poae*. Líneas 1 y 7: escalera de tamaño de 1000 pb; Línea 2-6 y 8-14: cepas de *F. poae* (220 pb).

5.2 Perfil Toxicogénico

La producción de tricotecenos por parte de las 22 cepas de *F. poae* se especifica en la tabla 4. El 50% (n=11) de las cepas fueron capaces de producir al menos una toxina, mientras que el otro 50% (n=11) fueron no toxicogénicas (tabla 3). Dentro de las cepas productoras, T2 fue la micotoxina con mayor número de cepas productoras (n=7), seguida por HT-2 y DAS (n=4 cada una). Ninguna de las cepas produjo cantidades detectables de NIV.

Tabla 4. Producción de T-2, HT-2, DAS, NEO y NIV por las diferentes cepas de *F. poae*. (-): no detectada y (+): detectada.

CEPA	NEO	HT-2	DAS	T-2	NIV
Fp 1	+	+	+	-	-
Fp 2	-	-	-	+	-
Fp 3	-	-	-	-	-
Fp 4	-	-	-	-	-
Fp 5	-	-	+	-	-
Fp 6	-	+	+	+	-
Fp 7	+	-	-	-	-
Fp 8	-	-	-	-	-
Fp 9	-	-	-	-	-
Fp 10	-	-	-	-	-
Fp 11	-	-	-	+	-
Fp 12	-	+	-	+	-
Fp 13	-	+	-	+	-
Fp 14	-	-	-	+	-
Fp 15	-	-	+	-	-
Fp 16	-	-	-	+	-
Fp 17	-	-	-	-	-
Fp 18	-	-	-	-	-
Fp 19	-	-	-	-	-
Fp 20	-	-	-	-	-
Fp 21	-	-	-	-	-
Fp 22	-	-	-	-	-

Tabla 5. Perfil toxicogénico de las cepas estudiadas

	Productoras de micotoxinas	Productoras de una sola micotoxina	Productoras de más de una micotoxina	No productoras de micotoxinas
Número de cepas	11	7	4	11
Porcentaje de cepas	50	32	18	50

5.3 Potencial genético de producción de ENNs

Todas las cepas analizadas presentaron el gen *esyn1*, codificante de la enzima enniantina sintasa lo cual indica que son potencialmente productoras de eniانتinas (Figura 12).



Figura 12. Productos de PCR para la determinación del genotipo de ENNs. Línea 1: marcador de peso molecular de 1000 pb, Líneas 2 y 3 producto de amplificación del gen *esyn1* por dos cepas de *F. poae* (273 pb).

6. DISCUSIÓN

A partir de los resultados obtenidos se pudo determinar que todas las cepas analizadas fueron identificadas molecularmente como *F. poae*. No se evidenció la presencia de *F. langsethiae*, *F. sporotrichioides* y *F. kyushuense*, especies morfológicamente similares a *F. poae*. Este hecho resalta la creciente relevancia de *F. poae* en los cultivos de trigo de nuestro país y resulta de gran importancia para la inocuidad del grano considerando que *F. langsethiae* y *F. sporotrichioides* presentan una mayor capacidad de producir T-2 y HT-2 que *F. poae* (Nazari et al., 2014).

Fusarium poae es una especie capaz de producir tricotecenos de tipo A y tipo B, eniatinas, beauvericina y moniliformina (Dinolfo & Stenglein, 2014; Desjardins 2006). En este trabajo T2 fue la toxina producida por un porcentaje mayor de las cepas analizadas (31,8%) seguida por HT-2 (18,2%), DAS (18,2%) y NEO (9,1%), ninguna cepa produjo cantidades detectables de NIV. Las micotoxinas T-2, HT-2, NEO y DAS pertenecientes al tipo A, poseen una mayor toxicidad aguda que las del tipo B, grupo al que pertenece NIV (Stenglein, 2009). Esto resalta aún más el potencial riesgo para la salud humana y animal que representa la contaminación de los granos de trigo con *F. poae*.

En cuanto a la capacidad de *F. poae* de producir T2, los resultados han mostrado ser variables. Mientras que algunos autores han reportado su producción (Bocarov-Stancic et al., 2007; Jestoi et al., 2008; Thrane et al., 2004; Vogelgsang et al., 2008; Yli-Mattila et al., 2011; Wenhe et al., 2019) otros autores han indicado la ausencia de cepas de *F. poae* capaces de producir estas toxinas y señalado que la principal toxina producida es NIV (Liu et al. 1998; Somma et al., 2010; Sugiura et al., 1993; Tini et al., 2021). En este sentido varios trabajos han indicado que *F. poae* exhibe una alta variabilidad en su capacidad de producir tricotecenos tanto del tipo A como del tipo B, en particular de NIV y T2, dependiendo no sólo de la cepa sino del sustrato. Vogelgsang et al., 2008 determinaron que cepas de *F. poae* producían mayores niveles de NIV cuando se utilizaba como sustrato granos de maíz, trigo o avena en comparación al arroz, sustrato utilizado en el presente trabajo donde no se detectó la producción de NIV por las cepas estudiadas. A partir de estos resultados resulta necesario estudiar la producción de NIV en granos de trigo para determinar si las cepas tienen la capacidad de producir esta toxina.

Respecto a la producción de otros tricotecenos del tipo A, el 18,2% de las cepas fueron productoras de HT-2 y DAS y el 9,1% de NEO. Estos resultados son similares a los encontrados en varios países de Europa como Italia, Rusia, Ucrania, Alemania, Suiza y Polonia, en Japón y Estados Unidos (Chelkowski et al., 1994; Somma et al., 2010; Sugiura et al., 1993; Thrane et al., 2004; Vogelgsang et al., 2008).

Nuestro trabajo confirma la capacidad de las cepas de *F. poae* de producir T2, HT2, DAS y NEO. Sumado a esto, las cepas mostraron también tener la capacidad genética de producir otro tipo de micotoxinas como lo son las ENNs. La capacidad de *F. poae* de producir ENNs ha sido ampliamente demostrada también por autores de otras partes del mundo como Chelkowski et al., 2007; Covarelli et al., 2015b; Dinolfo et al., 2014; Jestoi et al., 2008; Thrane et al., 2004; Tini et al., 2021; Vogelgsang et al. 2008. La producción simultánea de varias micotoxinas por las mismas cepas demuestra la existencia de un alto riesgo toxicogénico en el trigo asociado a la presencia de *F. poae*. Esto es importante considerando que en nuestro país solo existe reglamentación en cuanto a los niveles máximos permitidos de DON en trigo.

Dado que las cepas de *F. poae* pueden tener un perfil de micotoxinas diferente, es importante el estudio de cepas de esta especie provenientes de diferentes áreas geográficas y diferentes huéspedes. Sumado a esto, en Uruguay la incidencia de *F. poae* no se ha investigado en profundidad y no se dispone de información sobre su diversidad toxicológica y genética. Es así que se evidencia la necesidad de realizar más estudios que permitan generar información para

determinar el impacto en los cultivos de trigo, caracterizar con precisión el potencial de producción de micotoxinas de las cepas presentes en nuestro país y utilizar esta información para poder desarrollar estrategias que puedan mitigar su presencia.

7. CONCLUSIONES

Todas las cepas estudiadas fueron identificadas como *F. poae*. El 50% de las cepas de *F. poae* estudiadas fueron productoras de al menos un tipo de tricoteceno y el 100% potencialmente productoras de enniantinas.

La alta y diversa capacidad toxicogénica que presentan las cepas de *F. poae* constituyen un riesgo para el consumo de trigo y expresan la necesidad de realizar un monitoreo de estas toxinas en los granos.

Los resultados del presente trabajo aportan los primeros datos sobre la capacidad de producción de enniantinas por cepas de *F. poae* aisladas de trigo en Uruguay.

8. BIBLIOGRAFÍA

Agriopoulou, S.; Stamatelopoulou, E.; Varzakas, T. (2020) Advances in occurrence, importance, and mycotoxin control strategies: Prevention and detoxification in foods. *Foods*, 9, 137.

Akbari, P.; Braber, S.; Varasteh, S.; Alizadeh, A.; Garssen, J.; Fink-Gremmels, J. (2016) The intestinal barrier as an emerging target in the toxicological assessment of mycotoxins. *Archives of Toxicology*, 91, 1007-1029.

Alassane-Kpembi, I.; Puel, O.; Oswald, I.P. (2014) Toxicological interactions between the mycotoxins deoxynivalenol, nivalenol and their acetylated derivatives in intestinal epithelial cells. *Archives of Toxicology*, 89, 1337-1346.

Alisaac, E. & Mahlein, A. (2023) Fusarium head blight on wheat: Biology, modern detection and diagnosis and integrated disease management. *Toxins*, 15(3), 192.

Álvarez C, Azcarate M, Fernández Pinto V. (2009) Toxigenic potential of *Fusarium graminearum sensu stricto* isolates from wheat in Argentina. *International Journal of Food Microbiology*, 135, 131-135.

Arthur, J. (1891) Wheat scab. *Agriculture Experimental*, 36, 192-232.

Arunachalam, C. & Doohan, F. (2013) Trichothecene toxicity in eukaryotes: Cellular and molecular mechanisms in plants and animals. *Toxicology Letter*, 217, 149-158.

Audenaert, K.; Van Broeck, R.; Bekaert, B.; De Witte, F.; Heremans, B.; Messens, K., et al. (2009). *Fusarium* head blight (FHB) in Flanders: population diversity, inter-species associations and DON contamination in commercial Winter wheat varieties. *European Journal of Plant Pathology*, 125, 445-458.

Barreto, D.; Carmona M.; Ferrazini M.; Zanelli M.; Pérez B.A. (2004) Occurrence and pathogenicity of *Fusarium poae* in barley in Argentina. *Cereal Research Communications*, 32, 53-60.

Bernhardt, K.; Valenta, H.; Kersten, S.; Humpf, H.; Dänicke, S. (2016) Determination of T-2 toxin, HT-2 toxin, and three other type A trichothecenes in layer feed by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)--comparison of two sample preparation methods. *Mycotoxin Research*, 32, 89-97.

Bin, M.; McLaughlin, J.; Basu, D.; McCormick, S.; Tumer, N. (2011) Trichothecene mycotoxins inhibit mitochondrial translation--implication for the mechanism of toxicity. *Toxins*, 3, 1484-501.

Boerger, A. (1928). *Observaciones sobre agricultura, quince años de trabajos fitotécnicos en Uruguay*. Montevideo.

Bocarov-Stancic, A.; Levic, J.; Stankovic, S.; Krnjaja, V.; Kovacevic, T.; Tancic, S.(2007). The toxigenic potential of *Fusarium poae* originated from wheat. *Matica Srpska Proceedings for Natural Sciences*, 113, 113-123.

Bryden, W. (2012) Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Animal Feed Science and Technology*, 173, 134-158.

Buerstmayr, M.; Steiner, B.; Buerstmayr, H. (2020) Breeding for *Fusarium* head blight resistance in wheat-Progress and challenges. *Plant breeding*, 139(3), 429-454.

Bushuk, W. (1986) Wheat: chemistry and uses. *Cereal Food World*, 31, 218-226.

Capriotti, A.; Caruso, G.; Cavaliere, C.; Foglia, P.; Samperi, R.; Laganà, A. (2012) Multiclass mycotoxin analysis in food, environmental and biological matrices with chromatography/mass spectrometry. *Mass Spectrometry Review*, 31, 466-503.

Champeil, A.; Doré, T.; Fourbet, J. (2004a) *Fusarium* head blight: epidemiological origin of the effects of culture practices on head blight attacks and the production of micotoxins by *Fusarium* in wheat grains. *Plant Science*, 166, 1389-1415.

Champeil, A.; Fourbet, J.; Doré, T. (2004b) Effects of grain sampling procedures on *Fusarium* mycotoxin assays in wheat grains. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 6049-6054.

Chelkowski, J.; Lew, H.; Pettersson, H. (1994) *Fusarium poae* (Peck) Wollenw. Occurrence in maize ears, nivalenol production and mycotoxin accumulation in cobs. *Mycotoxin Research*, 10, 116-20.

Chelkowski, J.; Ritieni, A.; Wisniewska, H.; Mulé, G.; Logrieco, A. (2007) Occurrence of toxic hexadepsipeptides in pre harvest maize ear rot infected by *Fusarium poae* in Poland. *Journal of Phytopathology*, 155, 8-12.

Cinar, A. & Onbaşı, E. (2019). Mycotoxins: The hidden danger in foods. *Mycotoxins and food safety*, 1- 21.

Copock, R. & Jacobsen, B. (2009) Mycotoxins in animals and human patients. *Toxicology and Industrial Health*, 25, 637-655.

Cortinovis, C.; Caloni, F.; Schreiber, N.; Spicer, L. (2014) Effects of fumonisin B1 alone and combined with deoxynivalenol or zearalenone on porcine granulosa cell proliferation and steroid production. *Theriogenology*, 81, 1042-1049.

Covarelli, L.; Beccari, G.; Prodi, A.; Generotti, S.; Etruschi, F.; Juan, C.; Ferrer, E.; Mañes, J. (2015a) *Fusarium* species, chemotype characterisation and trichothecene contamination of durum and soft wheat in an area of central Italy. *Journal of Science and Food Agriculture*, 95, 540-551.

Covarelli, L.; Beccari, G.; Prodi, A.; Generotti, S.; Etruschi, F.; Meca, G. (2015b) Biosynthesis of beauvericin and enniatins in vitro by wheat *Fusarium* species and natural grain contamination in an area of Central Italy. *Food Microbiology*, 46, 618-626.

Covarelli, L.; Stifano, S.; Beccari, G.; Raggi, L.; Lattanzio, V.; Albertini, E. (2012) Characterization of *Fusarium verticillioides* strains isolated from maize in Italy: Fumonisin production, pathogenicity and genetic variability. *Food Microbiology*, 31, 17-24.

Cowger, C. & Arellano, C. (2010) Plump kernels with high deoxynivalenol linked to late *Gibberella zeae* infection and marginal disease conditions in winter wheat. *Phytopathology*, 100, 719-728.

Del Ponte, E.; Fernandes, J.; Bergstrom, G. (2007) Influence of growth stage on *Fusarium* head blight and deoxynivalenol production in wheat. *Journal of Phytopathology*, 155, 577-581.

Desjardins, A. (2006) *Fusarium Mycotoxins. Chemistry, Genetics, and Biology*. St. Paul, APS Press.

De Souza, J. & Formento, N. (2003) Estudios de antesis en trigo y su relación con la Fusariosis de Espiga (*Fusarium graminearum* y *Fusarium* spp.). Disponible en: https://www.inta.gov.ar/parana/info/documentos/produccion_vegetal/trigo Fecha de acceso: 29 octubre 2020.

Dewey, D. (1985) The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial Triticeae. En: Gustafson, J., ed. *Gene Manipulation in Plant Improvement*, Plenum Press, New York, 209-279.

Díaz de Ackermann, M. (1996) Golpe blanco de la espiga del trigo, causado por *Gibberella zeae* (Schw.) Petch. estado perfecto de *Fusarium graminearum* Schw. En: *Manejo de enfermedades de invierno y pasturas*. Montevideo, Unidad de Difusión e información Tecnológica del INIA, 1, 79-86.

Díaz de Ackermann, M.; Pereyra, S.; Stewart, S.; Mieres, J. (2002) Fusariosis de la espiga en trigo y cebada. *Hoja de Divulgación* N°79 Disponible en: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/7582/1/UY.INIA.ST.189.p.111-128-DIAZ-DE-ACKERMANN.pdf> Fecha de acceso: 10 octubre 2022.

Díaz de Ackermann, M. & Pereyra, S. (2011) Fusariosis de la espiga de trigo y cebada. *INIA Serie Técnica* N° 189, 111-128.

DIEA (2017) *Anuario Estadístico Agropecuario*, N°20, Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Disponible en: <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/comunicacion/publicaciones/anuario-estadistico-diea-2017> Fecha de acceso: 15 agosto 2022.

DIEA (2020) *Anuario Estadístico Agropecuario*. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Disponible en: <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-y-estadisticas/estadisticas/anuario-estadistico-agropecuario-2020> Fecha de acceso: 6 mayo 2021.

Dill-Macky, R. & Jones, R. (2000). The effect of previous crop residues and tillage on *Fusarium* head blight of wheat. *Plant Disease*, 84, 71-76.

Dinolfo, M.; Stenglein, S.; Moreno, M.; Nicholson, P.; Jennings P.; Salerno, G. (2010) ISSR markers detect high genetic variation among *Fusarium poae* isolates from Argentina and England. *European Journal of Plant Pathology*, 127, 483-491.

- Dinolfo, M. & Stenglein, S. (2014) *Fusarium poae* and mycotoxins: potential risk for consumers. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 49, 5-20.
- Dubin, H.; Gilchrist, L.; Reeves, L.; McNab, A. (1997) *Fusarium* Head Scab: global status and prospects. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, Ciudad de México. 130p.
- Dunière, L.; Sindou, J.; Chaucheyras-Durand, F.; Chevallier, I.; Thévenot-Sergentet, D. (2013) Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. *Animal Feed Science and Technology*, 182, 1-15.
- Ehrlich, K. & Daigle, K. (1987) Protein synthesis inhibition by 8-oxo-12,13-epoxytrichothecenes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 923, 206-213.
- Ernst, O.; Escudero, J.; Vázquez, D.; Cadenazzi, M.; Castro, M.; González, N.; Larramendi, S.; Bentancur, O; Suburu, G.; Godiño, M. (2012) Caracterización de la calidad industrial de variedades de trigo en Uruguay. Serie N° 37. Disponible en: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/2831/1/18429300712142343.pdf>. Fecha de acceso: 20 agosto 2020.
- Escrivá, L.; Font, G; Manyes, L. (2015) In vivo toxicity studies of *fusarium* mycotoxins in the last decade: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 78,185-206.
- European Food Safety Authority (2013) Scientific opinion on risks for animal and public health related to the presence of nivalenol in food and feed. *EFSA Journal*, 11, 3262p.
- European Food Safety Authority (2014) Scientific Opinion on the risks for human and animal health related to the presence of modified forms of certain mycotoxins in food and feed. *EFSA Journal*, 12, 3916p.
- FAO, (2022) Nota informativa de la FAO sobre la oferta y la demanda de cereales. Disponible en: <https://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/es/#:~:text=La%20producci%C3%B3n%20mundial%20de%20trigo,se%20mantiene%20en%20niveles%20r%C3%A9cord.> Fecha de acceso: 16 de diciembre 2023.
- Fels-Klerx, H.; Klemsdal, S.; Hietaniemi, V.; Lindblad, M.; Ioannou-Kakouri, E.; Asselt, E. (2012) Mycotoxin contamination of cereal grain commodities in relation to climate in NorthWest European. *Food Additive and Contaminant Part A*, 29, 1581-92.
- Fernández-Blanco, C.; Font, G.; Ruiz, M. (2016). Interaction effects of enniatin B, deoxinivalenol and alternariol in Caco-2 cells. *Toxicology Letters*, 241, 38-48.

- Föllmann, W.; Behm, C.; Degen, G. (2009) The emerging *Fusarium* toxin enniatin B: in-vitro studies on its genotoxic potential and cytotoxicity in V79 cells in relation to other mycotoxins. *Mycotoxin Research*, 25, 11-19.
- Gale, L. (2003) Population biology of *Fusarium* species causing head blight of grain crops. Pages 120-143 En: *Fusarium Head Blight of Wheat and Barley*. K. J. Leonard and W. R. Bushnell, eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN, 120-143.
- Gardiner, D.; Kemal, K.; Manners, J. (2009) Nutrient profiling reveals potent inducers of trichothecene biosynthesis in *Fusarium graminearum*. *Fungal Genetics and Biology*, 46, 604-613.
- Garmendia, G.; Pattarino, L.; Negrín, C.; Martínez-Silveira, A.; Pereyra, S.; Ward, T.; Vero, S. (2018). Species composition, toxigenic potential and aggressiveness of *Fusarium* isolates causing Head Blight of barley in Uruguay. *Food Microbiology*, 76, 426-433.
- Gilbert, J. & Tekauz, A. (2000) Recent developments in research on *Fusarium* head blight of wheat in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 22, 1-8.
- Gómez Pallarés, M.; León, A.; Rosell, C.; A. León, A., ed. ; C. Rosell, C., ed. (2007) En: *De tales harinas, tales panes. Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica*. Baéz ediciones, Córdoba, Argentina, 17-72. Disponible en: <https://digital.csic.es/bitstream/10261/17118/1/libro%20panificacion-2007.pdf> Fecha de acceso: octubre 2020.
- Goswami, R. & Kistler, H. (2004) Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. *Molecular Plant Pathology*, 5, 515–525.
- Hussein, H. & Brasel, J. (2001). Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 16, 101-134.
- INIA (2014) Guía para el manejo de la FUSARIOSIS DE LA ESPIGA EN TRIGO. 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) Fecha de acceso: 3 abril 2022.
- Ivanova, L.; Fæste, C.; Van Pamel, E.; Daeseleire, E.; Callebaut, A.; Uhlig, S. (2014) Presence of enniatin B and its hepatic metabolites in plasma and liver samples from broilers and eggs from laying hens. *World Mycotoxin Journal*, 7, 167-175.
- Jestoi, M.; Paavanen-Huhtala, S; Parikka, P. & Yli-Mattila, T. (2008) In vitro and in vivo mycotoxin production of *Fusarium* species isolated from Finnish grains. *Arch. Phytopathol. Plant. Prot.* 41: 545-558.

Kabak, B.; Dobson, A.; Var, I. (2006) Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 593-619.

Khaneghah, A.; Martins, L.; Von Hertwig, A.; Bertoldo, R.; Sant'Ana, A. (2018) Deoxynivalenol and its masked forms: Characteristics, incidence, control and fate during wheat and wheat based products processing-A review. *Trends in Food Science and Technology*, 71, 13-24.

Kikot, E.; Moschini, R.; Consolo, V.; Rojo, R.; Salerno, G.; Hours, R.; Gasoni, L.; Arambarri, A.; Alconada, T. (2011). Occurrence of different species of *Fusarium* from wheat in relation to disease levels predicted by a weather-based model in Argentina pampas region. *Mycopathologia*, 171, 139-49.

Köhl, J.; De Haas, B.; Kastelein, P.; Burgers, S.; Waalwijk, C. (2007) Population dynamics of *Fusarium* spp. and *Microdochium nivale* in crops and crop residues of winter wheat. *Phytopathology*, 97, 971- 978.

Kosicki, R.; Błajet-Kosicka, A.; Grajewski, J.; Twarużek, M. (2016). Multiannual mycotoxin survey in feed materials and feedingstuffs. *Animal Feed Science and Technology*, 215, 165-180.

Kulik, T.; Pszczółkowska, A.; Fordoński, G.; Olszewski, J. (2007) PCR approach based on the esyn1 gene for the detection of potential enniatin-producing *Fusarium* species. *International Journal of Food Microbiology*, 116, 319-324.

Lamprecht, S.; Marasas, W.; Sydenham, E.; Thiel, P.; Knox-Davies, P.; Van Wyk, P. (1989) Toxicity to plant and animals of an undescribed, neosolaniol monoacetate-producing *Fusarium* species from soil. *Plant Soil*, 114, 75-83.

Leplat, J.; Friberg, H.; Abid, M.; Steinberg, C. (2012) Survival of *Fusarium graminearum*, the causal agent of *Fusarium* head blight. *Agronomy for Sustainable Development*, 33, 97-111.

Leslie, J. & Summerell, B. (2006) *Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Professional, Ames, Iowa, USA.

Li, Y.; Wang, Z.; Beier, R.; Shen, J.; De Smet, D.; De Saeger, S.; Zhang, S. (2011). 415 T-2 toxin, a trichothecene mycotoxin: review of toxicity, metabolism, and analytical methods. *Journal of Agriculture Food and Chemistry*, 59, 3441-3453.

Liddell, C. (2003) Systematics of *Fusarium* Species and Allies Associated with *Fusarium* Head Blight. En: Leonard, K., ed.; Bushnell, W., ed. *Fusarium Head Blight of Wheat and Barley* . APS Press, Minnesota, Estados Unidos, 35-43.

- Lindblad, M.; Gidlund, A.; Sulyok, M.; Börjesson, T.; Krska, R.; Olsen, M.; Fredlund, E. (2013) Deoxynivalenol and other selected *Fusarium* toxins in Swedish wheat-Occurrence and correlation to specific *Fusarium* species. *International Journal of Food Microbiology*, 167, 284-291.
- Liu, W.; Sundheim, L.; Langseth, W. (1998). Trichothecene production and the relationship to vegetative compatibility groups in *Fusarium poae*. *Mycopathologia*, 140, 105-114.
- Logrieco, A.; Moretti, A.; Perrone, G.; Mulè, G. (2007) Biodiversity of complexes of mycotoxigenic fungal species associated with *Fusarium* ear rot of maize and *Aspergillus* rot of grape. *International Journal of Food Microbiology*, 119,11-16.
- Logrieco, A.; Rizzo, A.; Ferracane, R.; Ritieni, A. (2002) Occurrence of beauvericin and enniatins in wheat affected by *Fusarium avenaceum* head blight. *Applied Environmental Microbiology*, 68, 82-85.
- Lu, H.; Fernández-Franzón, M.; Font, G.; Ruiz, M. (2013) Toxicity evaluation of individual and mixed enniatins using an in vitro method with CHO-K1 cells. *Toxicology in In Vitro*, 27, 672-680.
- Luizzi, D. (2010) El rol de la fitopatología en los sistemas de producción actuales desde el punto de vista de la producción. En: Seminario de Actualización Manejo de Enfermedades en Trigo y Cebada Serie Actividades de Difusión N°618, 1-12. Disponible en:<<http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/112761220910153559.pdf>>
- Fecha de acceso: 7 de agosto 2019.
- Lukanowski, A. & Sadowski, C. (2002) Occurrence of *Fusarium* on grain and heads of winter wheat cultivated in organic, integrated, conventional systems and monoculture. *Journal of Applied Genetic*, 43, 69-74.
- 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, 685-690.
- Mahnine, N.; Meca, G.; Elabidi, G.; Ferhaoui, M.; Saoiabi, A.; Font, G.; Mañes, J.; Zinedine, A. (2011) Further data on the levels of emerging *Fusarium* mycotoxins enniatins (A, A1, B, B1), beauvericin and fusaproliferin in breakfast and infant cereals from Morocco. *Food Chemistry*, 124, 481-485.
- Malaiassi, T. (2016) *Fusariosis de la espiga de trigo: las malezas como fuente de inóculo*. Tesis Ing. Agr. Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. La Plata, Argentina.

- Mallmann, C.; Dilkin, P. (2011) Mycotoxins. En: Zaviezo, D., ed. *Mycotoxins and mycotoxicosis in swine*. Special Nutrients edition. Miami, Florida, USA, 6-19
- Marasas, W.; Nelson, P.; Toussoun, T. (1984) *Toxigenic Fusarium species-Identity and Mycotoxicology*. The Pennsylvania State University Press, University Park, PA.
- Marin, S.; Ramos, A.; Cano-Sancho, G.; Sanchis, V. (2013) Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food Chemistry and Toxicology*, 60, 218-37.
- McCormick, S.; Stanley, A.; Stover, N.; Alexander, N. (2011) Trichothecenes: from simple to complex mycotoxins. *Toxins (Basel)*, 3, 802-814.
- Meca, G.; Zinedine, A.; Blesa, J.; Font, G.; Mañes, J. (2010) Further data on the presence of *Fusarium* emerging mycotoxins enniatins, fusaproliferin and beauvericin in cereals available on the Spanish markets. *Food Chemistry and Toxicology*, 48, 1412-1416.
- Miller, J. (1994) Epidemiology of *Fusarium* Ear Diseases of Cereals. En: Miller, J., ed. *Mycotoxins in Grain. Compounds Other Than Aflatoxin*. Eagan Press, St. Paul, Minnesota, Estados Unidos.
- Miller, J. (2008) Mycotoxins in small grains and maize: old problems, new challenges. *Food Additives and Contaminants*, 25, 219-230.
- Molto, G.; Gonzalez, H.; Resnik, S.; Gonzalez, A. (1997). Production of trichothecenes and zearalenone by isolates of *Fusarium spp.* from Argentinian maize. *Food Additives and Contaminants Part A*, 14, 263-268.
- Morrison, E.; Kosiak, B.; Ritieni, A.; Aastveit, A.; Uhlig, S.; Bernhoft, A. (2002) Mycotoxin production by *Fusarium avenaceum* strains isolated from Norwegian grain and the cytotoxicity of rice culture extracts to porcine kidney epithelial cells. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 3070-3075.
- Moschini, R.; 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*, 31, 39-53.
- Nagashima, H.; Nakagawa, H.; Iwashita, K. (2006). Cytotoxic effects of nivalenol on HL60 cells. *Mycotoxins*, 56, 65-70.
- Nathanail, A.; Varga, E.; Meng-Reiterer, J.; Buesch, I. C.; Michlmayr, H.; Malachova, A.; Fruhmann, P.; Jestoi, M.; Peltonen, K.; Adam, G.; Lemmens, M.; Schuhmacher, R.; Berthiller, F. (2015) Metabolism of the *Fusarium* mycotoxins T-2 Toxin and HT-2 Toxin in wheat. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 9, 7862-72.

- Nazar, L.; Patteri, E.; Terzi, V.; Morcia, C.; Rossi, V. (2014). Influence of temperature on infection, growth, and mycotoxin production by *Fusarium langsethiae* and *F. sporotrichioides* in durum wheat. *Food Microbiology*, 39, 19-26.
- Nelson, P.; Dignani, M.; Anaissie, E. (1994) Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clinical Microbiology Reviews*, 7, 479-504.
- Nelson, P.; Toussoun, T.; Marasas, W. (1983) *Fusarium species: An illustrated manual for identification*. The Pennsylvania State University, Pennsylvania, Estados Unidos.
- Neme, K. & Mohammed, A. (2017). Mycotoxin occurrence in grains and the role of postharvest management as a mitigation strategy. A review. *Food Control*, 78, 412-425.
- Nogueira, M. (2019) *Fusarium: Producción de toxinas en granos de cebada y su interacción con Brachypodium*. Tesis de Doctorado, Universidad Nacional de La Plata.
- Omurtag, G. (2008) Fumonisin, trichothecenes and zearalenone in cereals. *International Journal of Molecular Sciences*, 9, 2062-2090.
- Paterson, R. & Lima, N. (2010) How will climate change affect mycotoxins in food? *Food Research International*, 43,1902-1914.
- Pereyra, S. (2003) Prácticas culturales para el manejo de la fusariosis de la espiga. En: *Jornada Técnica de cultivos de invierno*. INIA, Serie Actividades de difusión, 312, 1-9.
- Pereyra, S.; Vero, S.; Garmendia, G.; Cabrera, M.; Piazolla, M. (2006) Diversity of fungal populations associated with *Fusarium* head blight in Uruguay. En: Ban, T., ed.; Lewis, J., ed.; Phipps, E., ed. *The Global Fusarium Initiative for International Collaboration: A Strategic Planning Workshop* CIMMYT, El Batán, Mexico; 2006, 35-41.
- Pereyra, S. & Díaz de Ackermann, M. (2009) Enfermedades transmitidas por rastrojo en trigo y cebada. La Estanzuela, Colonia (Uruguay), INIA, 566, 25-34.
- Pieters, M.; Fiolet, D.; Baars, A. (1999) Deoxynivalenol: derivation of concentration limits in wheat and wheat containing food products. Editado por: National institute of public health and the environment, Bilthoven, Países Bajos. 32p.
- Pizzo, F.; Caloni, F.; Schutz, L.; Totty, M.; Spicer, L. (2015) Individual and combined effects of deoxynivalenol and zearalenol on cell proliferation and steroidogenesis of granulosa cells in cattle. *Environmental and Toxicology Pharmacology*, 40, 722-728.

Proctor, R.; Hohn, T.; McCormick, S. (1995) Reduced virulence of *Gibberella zeae* caused by disruption of a trichothecene toxin biosynthetic gene. *Molecular Plant Microbe Interaction*, 8, 593-601.

Ramos, A. (2018) Micotoxinas: situación actual y retos futuros. Universidad de Lleida. Disponible en: <http://iuca.unizar.es/sites/default/files/intranet/2016/Presentaciones%20UIMP/Charla%20AJ%20Ramos.pdf> Fecha de acceso: 7 de agosto 2021.

Rasmussen, R.; Storm, I.; Rasmussen, P.; Smedsgaard, J.; Nielsen, K. (2010) Multi-mycotoxin analysis of maize silage by LC-MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397, 765-776.

Refai, M. & Hassan, A. (2015). Monograph on the Genus *Fusarium*. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/278848152_Monograph_on_the_Genus_Fusarium Fecha de acceso: 20 de diciembre 2018.

Richardson, K.; Toney, G.; Haney, C.; Hamilton, P. (1989) Occurrence of scirpentriol and its seven acetylated derivatives in culture extracts of *Fusarium sambucinum*. *Journal of Food Protection*, 52, 871-876.

Rocha, O.; Ansari, K.; Doohan, F. (2005) Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: a review. *Food Additive and Contaminant*, 22, 369-378.

Rohácik, T. & Hudec, K. (2005) Influence of agroenvironmental factors on *Fusarium* infestation and population structure in wheat kernels. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 12, 39-45.

Rotter, A.; Pelusky, D.; Prestka, J. (1994) Toxicology of deoxinivalenol (vomitoxin). *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 48, 1-34.

Salas, B.; Steffenson, B.; Casper, H.; Tacke, B.; Prom, L.; Fetch Jr., T.; Schwarz, P. (1999) *Fusarium* species pathogenic to barley and their associated mycotoxins. *Plant Disease*, 83, 667-674.

Santini, A.; Ferracane, R.; Meca, G.; Ritieni, A. (2009). Overview of analytical methods for beauvericin and fusaproliferin in food matrices. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395, 1253-1263.

Scala, V.; Aureli, G.; Cesarano, G.; Incerti, G.; Fanelli, C.; Scala, F.; Reverberi, M.; Bonanomi, G. (2016) Climate, soil management, and cultivar affect *Fusarium* head blight incidence and deoxynivalenol accumulation durum wheat in southern Italy. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1014.

Schmale, D. & Bergstrom, G. (2003). *Fusarium* head blight. *Plant Health Instructor*, 10, 1094.

Schollenberger, M.; Müller, H.; Ernst, K.; Sondermann, S.; Liebscher, M.; Schlecker, C.; Wischer, G.; Drochner, W.; Hartung, K.; Piepho, H. (2012) Occurrence and distribution of 13 trichothecene toxins in naturally contaminated maize plants in Germany. *Toxins*, 4, 778-787.

Seifert, K. (2001). *Fusarium* and anamorph generic concepts. En: Summerell, B., ed.; Leslie, J., ed.; Backhouse, D., ed.; Bryden, W., ed.; Burgess, L. *Fusarium. Paul E. Nelson Memorial Symposium*. APS Press, Minnesota, Estados Unidos, 15-28.

Setter, T. & Waters, I. (2003). Review of prospects for germplasm improvement for waterlogging tolerance in wheat, barley and oats. *Plant and Soil*, 253, 1-34.

Shaner, G. (2003) Epidemiology of *Fusarium* head blight of small grain cereals in North America. En: Leonard, K., ed.; Bushnell, W., ed. *Fusarium Head Blight of Wheat and Barley*. APS Press, Minnesota, Estados Unidos, 84-119.

Sheng, K.; Zhang, H.; Yue, J.; Gu, W.; Gu, C.; Zhang, H.; Wu, W. (2018). Anorectic response to the trichothecene T-2 toxin corresponds to plasma elevations of the satiety hormone glucose-dependent insulinotropic polypeptide and peptide YY3-36. *Toxicology*, 402, 28-36.

Simpson, D.; Weston, G.; Turner, J.; Jennings, P.; Nicholson, P. (2001). Differential control of head blight pathogens of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination of grain. *European Journal of Plant Pathology*, 107, 421-431.

Singh, J.; Mehta, A. (2020) Rapid and sensitive detection of mycotoxins by advanced and emerging analytical methods: A review. *Food Science and Nutrition*, 8, 2183-2204.

Sinha, R.N. (1995) The Stored-Grain Ecosystem. En: Jayas, D., ed.; White, N., ed.; Muir, W., ed. *Stored-Grain Ecosystems*, Marcel Dekker Inc., New York, 1-32.

Siou, D.; Gélisse, S.; Laval, V.; Repinçay, C.; Canalès, R.; Suffert, F. (2014) Effect of wheat spike infection timing on *Fusarium* head blight development and mycotoxin accumulation. *Plant Pathology*, 63, 390-399.

Somma, S.; Alvarez, C.; Ricco, V.; Ferracane, L.; Ritieni, A.; Logrieco, A.; Moretti, A. (2010). Trichothecene and beauvericin mycotoxin production and genetic variability in *Fusarium poae* isolated from wheat kernels from northern Italy. *Food Additive and Contaminants: Part A*, 27, 729-737.

Sotnichenko, A.; Pantsov, E.; Shinkarev, D.; Okhanov, V. (2019) Hydrophobized reversed-phase adsorbent for protection of dairy cattle against lipophilic toxins from diet. Efficiency *In Vitro* and *In Vivo*. *Toxins*, 11, 256.

Souto, G. (2007) Trigo y derivados: situación y perspectivas. En: Anuario 2007. Editado por la Oficina de Programación y Política Agropecuaria del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Montevideo, Uruguay. Disponible en: www.mgap.gub.uy/opypa/ANUARIOS/Anuario07/docs/08_Trigo_derivados.pdf Fecha de acceso: 25 febrero 2021

Steciow, M. (2011) Micotoxicosis. Disponible en: <http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Micotoxi.htm>. Fecha de acceso: 6 de diciembre 2020.

Stenglein, S. (2009) *Fusarium poae*: a pathogen that needs more attention. *Journal of Plant Pathology*, 91, 25-36.

Stewart, S.; Pereyra, S.; Díaz, M. (2001) Manchas foliares de trigo y cebada en siembra directa. INIA Uruguay. *Serie Técnica* N°36. Disponible en: www.inia.org.uy. Fecha de acceso: 4 noviembre 2022.

Streit, E.; Naehrer, K.; Rodrigues, I.; Schatzmayr, G. (2013) Mycotoxin occurrence in feed and feed raw materials worldwide: Long-term analysis with special focus on Europe and Asia. *Journal of Science and Food Agriculture*, 93, 2892-2899.

Sugiura, Y.; Fukasaku, K.; Tanaka, T.; Matsui, Y.; Ueno, Y. (1993) *Fusarium poae* and *Fusarium crookwellense*, fungi responsible for the natural occurrence of nivalenol in Hokkaido. *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 3334-3338.

Summerell, B.; Baharuddin, S.; Leslie, J. (2003) A Utilitarian Approach to *Fusarium* Identification. *Plant Disease*, 87, 117-128.

Sun, Z.; Xu, J.; Wang, G.; Song, A.; Li, C.; Zheng, S. (2020) Hydrothermal fabrication of rectorite based biocomposite modified by chitosan derived carbon nanoparticles as efficient mycotoxins adsorbents. *Applied Clay and Science*, 184, 105-373.

Supothina, S.; Isaka, M.; Kirtikara, K.; Tanticharoen, M.; Thebtaranonth, Y. (2004) Enniatin production by the entomopathogenic fungus *Verticillium hemipterigenum* BCC 1449. *Journal of Antibiotic*, 57, 732-738.

Sweeney, M. & Dobson, A. (1998) Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *International Journal of Food Microbiology*, 43, 141-158.

Sykes, J. (2003) *Fusarium* Ear Blight and Mycotoxins in Wheat. *The Agronomist*, 1, 19-23.

- Tan, D. (2010). *Toxic Secondary Metabolites Produced by Western Australian Fusarium Spp.* Tesis Doctoral, University of Western Australia.
- Tekauz, A.; McCallum, B.; Gilbert, J. (2000) Review: *Fusarium* head blight of barley in western Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 22, 9-16.
- Thouvenot, D. (2002) Moisissure et mycotoxine. En: CERA AF, ed. Mycotoxines: un prochain enjeu de sécurité alimentaire?. *Les cahiers de recherche*, 2, 14-17.
- Thrane, U; Adler, A.; Clasen, P.; Galvano, F.; Langseth, W.; Lew, H.; Logrieco, A.; Nielsen, K.; Ritieni, A. (2004) Diversity in metabolite production by *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae* and *Fusarium sporotrichioides*. *International Journal of Food Microbiology*, 95, 257-266.
- Tini, F.; Covarelli, L.; Cowger, C.; Sulyok, M.; Benincasa, P.; Beccari, G. (2021) Infection timing affects *Fusarium poae* colonization of bread wheat spikes and mycotoxin accumulation in the grain. *Journal of Science and Food Agriculture*, 102, 6358-6372.
- Vázquez, D. (2009) Aptitud industrial de trigo. INIA. Disponible en: <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentoscompartidos/18429130709133540.pdf> Fecha de acceso: 6 de noviembre 2020.
- Vocke, G. & Allen, E. (2007) Wheat situation and outlook yearbook. Economic Research Service, USDA Disponible en: <http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/ers/WHS> Fecha de acceso: 8 de marzo 2021.
- Vogelgsang, S.; Sulyok, M.; Bänziger, I.; Krska, R.; Schuhmacher, R.; Forrer, H. (2008). Effect of fungal strain and cereal substrate on in vitro mycotoxin production by *Fusarium poae* and *Fusarium avenaceum*. *Food Additives and Contaminants. Part A*, 25, 745-757.
- Vorholt, J. (2012) Microbial life in the phyllosphere. *Nature Review Microbiology*, 10, 828-840.
- Wenhe, Z.; Lei, L.; Yuan, D.; Guixian, M.; Lu, T.; Yan, L.; Jianhui, C.; Huiyan, W. (2019) Identification and characterization of a T-2 toxinproducing *Fusarium poae* strain and the anti-tumor effect of the T- 2 toxin on human hepatoma cell line SMMC-7721. *RSC Advances*, 9, 928.
- Wu, Q.; Dohnal, V; Huang, L; Kuča, K.; Yuan, Z. (2010) Metabolic pathways of trichothecenes, drug metabolism. *Reviews*, 42, 250-267.
- Wu, W.; Flannery, B.; Sugita-Konishi, Y.; Watanabe, M.; Zhang, H.; Pestka, J. (2012) Comparison of murine anorectic responses to the 8-ketotrichothecenes 3-acetyldeoxynivalenol, 15 acetyldeoxynivalenol, fusarenon X and nivalenol. *Food Chemistry and Toxicology*, 50, 2056-2061.

Wu, Q.; Dohnal, V.; Kuca, K.; Yuan, Z. (2013) Trichothecenes: structure-toxic activity relationships. *Current Drug Metabolism*, 14, 641-660.

Xu, X. (2003) Effects of environmental conditions on the development of *Fusarium* ear blight. *European Journal of Plant Pathology*, 109, 683-689.

Xu, H.; Dong, Y.; Guo, J.; Jiang, X.; Liu, J.; Xu, S.; Wang, H. (2018) Monoclonal antibody production and the development of an indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for screening T-2 toxin in milk. *Toxicon*, 156, 1-6.

Xu, X. & Nicholson, P. (2009) Community ecology of fungal pathogens causing wheat head blight. *Annual Review of Phytopathology*, 384, 83-103.

Xu, X.; Nicholson, P.; Thomsett, M.; Simpson, D.; Cooke, B.; Doohan, F.; Brennan, J.; Monaghan, S.; Moretti, A.; Mule, G.; et al. (2008) Relationship between the fungal complex causing *Fusarium* head blight of wheat and environmental conditions. *Phytopathology*, 98, 69-78.

Xu, X.; Parry, D.; Nicholson, P. (2005) Predominance and association of pathogenic fungi causing *Fusarium* ear blighting wheat in four European countries. *European Journal of Plant Pathology*, 112, 143-154.

Xue, H.; Bi, Y.; Hussain, R.; Pu, L.; Nan, M.; Cheng, X.; Wang, Y.; Li, Y. (2018) Detection of NEO in muskmelon fruits inoculated with *Fusarium sulphureum* and its control by postharvest ozone treatment. *Food Chemistry*, 254, 193-200.

Yang, S.; De Boevre, M.; Zhang, H. et al. (2015) Unraveling the in vitro and in vivo metabolism of diacetoxyscirpenol in various animal species and human using ultrahigh-performance liquid chromatography-quadrupole/time-of-flight hybrid mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407, 8571-8583.

Yli-Mattila, T.; Ward, T.; O'Donnell, K.; Proctor, R.; Burkin, A.; Kononenko, G.; Gavriloova, O.; Aoki, T.; McCormick, S.; Gagkaeva, T. (2011). *F. sibiricum* sp. nov; a novel type A trichothecene-producing *Fusarium* from northern Asia closely related to *F. sporotrichioides* and *F. langsethiae*. *International Journal of Food Microbiology*, 147, 58-68.

Zhang, J.; Liu, S.; Zhang, H.; Li, Y.; Wu, W.; Zhang, H. (2017) Gut satiety hormones cholecystokinin and glucagon-like Peptide-1 7-36 amide mediate anorexia induction by trichothecenes T-2 toxin, HT-2 toxin, diacetoxyscirpenol and neosolaniol. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 335, 49-55.