

Evolución de especies de *Fusarium* en los estadios de formación del grano de maíz y determinación de Fusaproliferina y Beauvericina

Martins, Jorge L.; Zitelli, Sandra; Basílico, María de la Luz Zapata de; Basílico, Juan C.

Cátedra de Microbiología – Dpto. Ingeniería en alimentos – Facultad de Ingeniería Química – U.N.L. Santiago del Estero 2829 – 3000 Santa Fe (Argentina) – Fax: 0342 – 4571162 – e-mail: jcbasili@fiqus.unl.edu.ar

RESUMEN: Se estudió la evolución de especies de *Fusarium* en cada estadio de formación de granos de maíz contaminados y la presencia de Fusaproliferina y Beauvericina en cultivos de Santa Fe, Argentina. Se identificaron 14 Géneros contaminantes, siendo los más importantes: *Fusarium*, *Geotrichum* y *Ustilago*. De las 13 especies de *Fusarium* identificadas, predominaron *F.proliferatum*, *F.verticillioides* y *F.subglutinans*. Durante el cuajado predominó *F.proliferatum*, en estadios intermedios existió variación, donde según la muestra predominó cualquiera de las especies mayoritarias y al momento de cosecha se observó un incremento de *F.verticillioides*, *F.subglutinans* y disminución de *F.proliferatum*. De 24 muestras estudiadas se corroboró que la presencia de especies de *Fusarium* al momento de cosecha no es indicativa de las toxinas que puedan estar presentes, debido a que determinadas especies de *Fusarium* aparecieron durante la formación del grano, no estando presentes al momento de cosecha. Las muestras estudiadas fueron negativas para Fusaproliferina y Beauvericina.

Palabras Claves: *Fusarium*, maíz, micotoxinas, fusaproliferina, beauvericina

SUMMARY: Evolution of *Fusarium* species in the stages of maize grain formation and determination of fusaproliferin and beauvericin. Martins, Jorge L.; Zitelli, Sandra; Basílico, María de la Luz Zapata de; Basílico, Juan C. It was studied the species evolution of *Fusarium* in each formation stage of contaminated corn seed and the presence of Fusaproliferin and Beauvericin in crops of Santa Fe, Argentine.

It was identified 14 contaminated Genus, and the most important were: *Fusarium*, *Geotrichum* and *Ustilago*. Of 13 identified species of *Fusarium* predominate *F.proliferatum*, *F.verticillioides* and *F.subglutinans*. It was checked that during the thicken predominated *F.proliferatum*, in intermediate species there were variation, where according to proof predominated anyone of the majority species and at the moment of harvest we noted an increase of *F.verticillioides* and *F.subglutinans* and a diminution of *F.proliferatum*.

Of 24 studied proofs it was noted that the presence of *Fusarium* at the moment of harvest isn't indicative of toxin that could be present, because of determinated species of *Fusarium* appeared during the seed formation, they don't appear at the moment of harvest.

The studied proofs were negatives for Fusaproliferin and Beauvericin.

Key words: *Fusarium*, maize, micotoxin, fusaproliferin, beauvericin.

Introducción

En Argentina el cultivo del maíz es uno de los más importantes colocando al país como segundo exportador mundial siguiendo a EEUU (1).

La producción de éste cereal en la provincia de Santa Fe es de vital importancia por su aporte al sector agroindustrial y al comercio exterior en el nivel nacional dado que en el año 1998 por puertos santafesinos se embarcó un 46,27 % del total exportado por el país (2; 3).

Las enfermedades causadas por mohos afectan el potencial productivo de este cereal, limitando los rendimientos y la calidad de lo cosechado, siendo el Género *Fusarium* uno de los patógenos más importantes para estas plantas, causando el secado prematuro, marchites, putrefacción de raíces y canchales en éste y otros cultivos. Chulze y col⁽⁴⁾ han demostrado la evolución de especies de *Fusarium* que colonizan la mazorca desde el cuajado del grano al momento de cosecha.

El Género *Fusarium* es productor de numerosas micotoxinas, como Tricotecenos, Zearalenona,

Fumonisin, Moniliformina(5). En los últimos años se ha puesto en evidencia la acción tóxica de nuevos metabolitos producidos por algunas especies de este Género, tales como Beauvericina(6) y Fusaproliferina(7).

Beauvericina es un ciclohexapéptido con propiedades antibióticas(8), insecticidas(9) y fitotóxicas(10). Sus actividades antimicrobianas están asociadas a la traslocación de sodio y potasio a través de las membranas celulares, de forma que producen descarga de concentraciones creadas por el metabolismo celular (11). Beauvericina es tóxica para varias líneas celulares(12), en particular induce muerte celular programada similar a la apoptosis y causa citólisis acompañada de fragmentación del DNA internucleosomal (11).

Por otra parte, Fusaproliferina es una toxina caracterizada a partir de cultivos de *Fusarium proliferatum* aislado de maíz. Tiene un esqueleto con 5 unidades isoprénicas (7). En bioensayos con embriones de pollo, fueron observados serios efectos teratogénicos, en particular dicotomía cefálica, macrocefalia y asimetría de las extremidades, así como hemorragia en la superficie de las patas y alas(13).

El objetivo del presente trabajo ha sido estudiar la evolución de las especies de *Fusarium* durante la formación del grano de maíz y determinar la presencia de Beauvericina y Fusaproliferina en este cultivo para la zona central de la provincia de Santa Fe, dado que al presente no se ha realizado este tipo de estudios.

Materiales y Métodos

Toma de muestras y su tratamiento:

Se analizaron 6 lotes de mazorcas visiblemente contaminadas para cada uno de los 4 estadios de formación del grano de maíz (10 mazorcas para cada estadio de las 24 muestras), éstos fueron: 1-cuajado, 2-llenado de grano, 3-madurez fisiológica y 4-cosecha. Las mismas fueron obtenidas a partir de diferentes cultivos del Dpto. Castellanos de la Provincia de Santa Fe, Argentina, siendo inmediatamente transportadas al laboratorio donde fueron secadas en estufa durante 24 hs a 45 °C, luego fueron desgranadas y guardadas a -12 °C hasta el momento de su análisis (aislamiento, % de granos contaminados, identificación de especies de *Fusarium*, determinación de Fusaproliferina y Beauvericina).

Recuento e identificación de aislados fúngicos:

Para cada una de las 24 muestras se sembraron cien granos sobre la superficie de placas conteniendo el medio Papa Dextrosa Agar más el agregado de los antibióticos 0,3 g/L de Pentacloronitrobenzoceno, 0,3 g/L de Streptomycin-sulfato y 0,15 g/L de Neomicina -sulfato (PDA-PCNB) a razón de 10 granos por placa. Los mismos fueron previamente desinfectados en su superficie con una solución de hipoclorito de sodio conteniendo 0.5 % de cloro activo durante 1,5 min con el objeto de analizar la contaminación interna de los mismos (14).

Todas las placas fueron incubadas de 10 a 14 días a 25 °C, con un fotoperíodo de 12 hs. de luz (dos tubos fluorescentes de 40 watt, uno de luz blanca y uno de luz UV, suspendidos a 40 cm de distancia desde donde fueron colocadas las placas). Concluida la incubación de las muestras, los granos de maíz se observaron con lupa estereoscópica y se determinó la frecuencia de los granos que presentaron desarrollo de al menos una colonia fúngica. Los resultados se expresaron como porcentaje de granos contaminados.

Las colonias fúngicas obtenidas fueron aisladas en PDA-PCNB hasta obtener cultivos puros. Los géneros fúngicos fueron identificados mediante observación macro y microscópica de acuerdo a las pautas propuestas por diferentes autores (15; 16; 17). En caso de haber obtenido una colonia sospechosa de pertenecer al Género *Fusarium* pero que no haya producido macroconidios, se la replicó en el medio Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA)(18) e incubó por 7 a 10 días en las condiciones antes citadas para poder confirmar su identidad.

Para la identificación de las especies de *Fusarium* a partir de cultivos monospóricos, se utilizaron las pautas de Nelson y col.(19). Las características macroscópicas (aparición morfológica y coloración de las colonias) fueron observadas en el cultivo desarrollado sobre PDA-PCNB luego de 10 días de incubación en las condiciones antes detalladas, ya que por su alto contenido en carbohidratos, este medio enfatiza el crecimiento fúngico en perjuicio de la esporulación. La determinación de las características microscópicas estuvo basada en la observación de los cultivos desarrollados sobre SNA, a los 14 días de incubación, este medio promueve la esporulación más que el crecimiento micelial. Para poder diferenciar algunas especies fue necesario realizar técnicas de microcultivos y así poder obser-

var el desarrollo de las cadenas de microconidios con lupa estereoscópica.

Determinación de Fusaproliferina y Beauvericina

Los estándares para Beauvericina y Fusaproliferina fueron cedidos por el Departamento de Ciencias de los Alimentos, Universidad «Federico II» de Nápoles, Italia.

Para los dosajes de Fusaproliferina y Beauvericina en maíz se utilizó una técnica por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC), donde básicamente se hizo una extracción con metanol, se realizó una limpieza del extracto con una columna de extracción en fase sólida: C:18 (300mg, 3 mL: Varian, país) se llevó a sequedad en rotavapor (Buchii, Suiza) y resuspendió en 1 mL de metanol. La determinación se llevó a cabo en un cromatógrafo Perkins Elmer series 200 LC pump, con detector Perkins Elmer modelo 785 A, usando como columna: Phenomenex-Júpiter (país) de 5 μ M, C:18, 300 A, 250 x 4,6 mm. Habiendo utilizado una longitud de onda de 261 nm, fase móvil con gradiente para tiempo 0, con 50 % de Acetonitrilo y 50 % de agua, llegando a los 15 min. con 100 % de Acetonitrilo, con un flujo de 1,2 mL/min, con unidades de absorvancia a escala completa (AUFS) de 0,5 y un Risetime de 1. Todos los reactivos utilizados fueron grado HPLC.

Resultados y Discusiones

Los resultados hallados señalan que de las 24 muestras analizadas, 6 presentaron un porcentaje de granos contaminados entre 90 – 99 % y el resto del 100 %.

Respecto a la micoflora identificada (Tabla 1), los Géneros con mayor frecuencia de aparición y número de aislados hallados en los distintos estadios de desarrollo de los granos de maíz fueron: *Fusarium* con el 48,7%, *Geotrichum* con 15,9%, *Ustilago* con 10,9 % y *Rhizopus* con 7,7%, representando sólo estos cuatro géneros más del 80% de la contaminación total.

Por otra parte tenemos Géneros que si bien cuentan con un número de aislados menor, su aparición estuvo presente en la mayoría de las muestras, como es el caso de *Alternaria*, *Penicillium* y *Cladosporium*. Se detectaron Géneros de aparición esporádica y número de aislados muy bajos como en el caso de *Mucor*, *Moniliella*, *Chrysonilia*, *Botrytis*,

Epicoccum, *Verticillium* y *Phialophora*, por último el género *Aureobasidium* se ha hallado con escasa frecuencia pero con alto número de aislados.

Cabe destacar que los principales Géneros fúngicos asociados con la producción de micotoxinas, además de *Fusarium* (20), incluyen especies de *Penicillium* y *Alternaria* entre otros (21), razón por la cual se debería tener presente este dato debido a la posibilidad de generar sinergismos como resultado de la co-ocurrencia de toxinas producidas por diferentes especies fúngicas en el mismo grano.

Las especies de *Fusarium* identificadas en las muestras de grano de maíz procedentes del Departamento Castellanos de la Provincia de Santa Fe, se indican en la Figura 1. Éste es el principal Género que causa el deterioro del maíz en la mazorca (22; 19), pero la importancia económica de las enfermedades producidas por *Fusarium* en maíz se ve incrementada por el hecho de que todas sus especies producen potentes micotoxinas de considerable significancia para la salud humana y animal (23). Puede observarse que las especies predominantes fueron: *Fusarium proliferatum*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans* y *F. sporotrichioides*.

Fusarium proliferatum posee capacidad de producir varias toxinas incluyendo las Fumonisinias, Moniliformina, Fusaproliferina y Beauvericina (24; 25; 26), también es productor de Fusarina C, un poderoso mutágeno (27). A pesar de su importancia como productor de toxinas, poco se conoce sobre su ecología y epidemiología (28).

La micotoxina más potente producida por *F. verticillioides* es Fumonisina B₁ (29). Éste y especies relacionadas tales como *F. proliferatum*, son endémicas en maíz en la mayor parte del mundo: USA, Europa, Sudáfrica, Zambia, China, Tailandia y Australia, siendo su control muy difícil de realizar (25; 30).

F. sporotrichioides está reportado como el mayor causante de aleukia tóxica alimentaria (ATA) en épocas de la segunda guerra mundial (31).

Fusarium subglutinans está taxonómicamente relacionado con *F. verticillioides*, se han reportado aislados productores de Moniliformina, Fumonisina B₁, además de Beauvericina y Ácido fusárico (23).

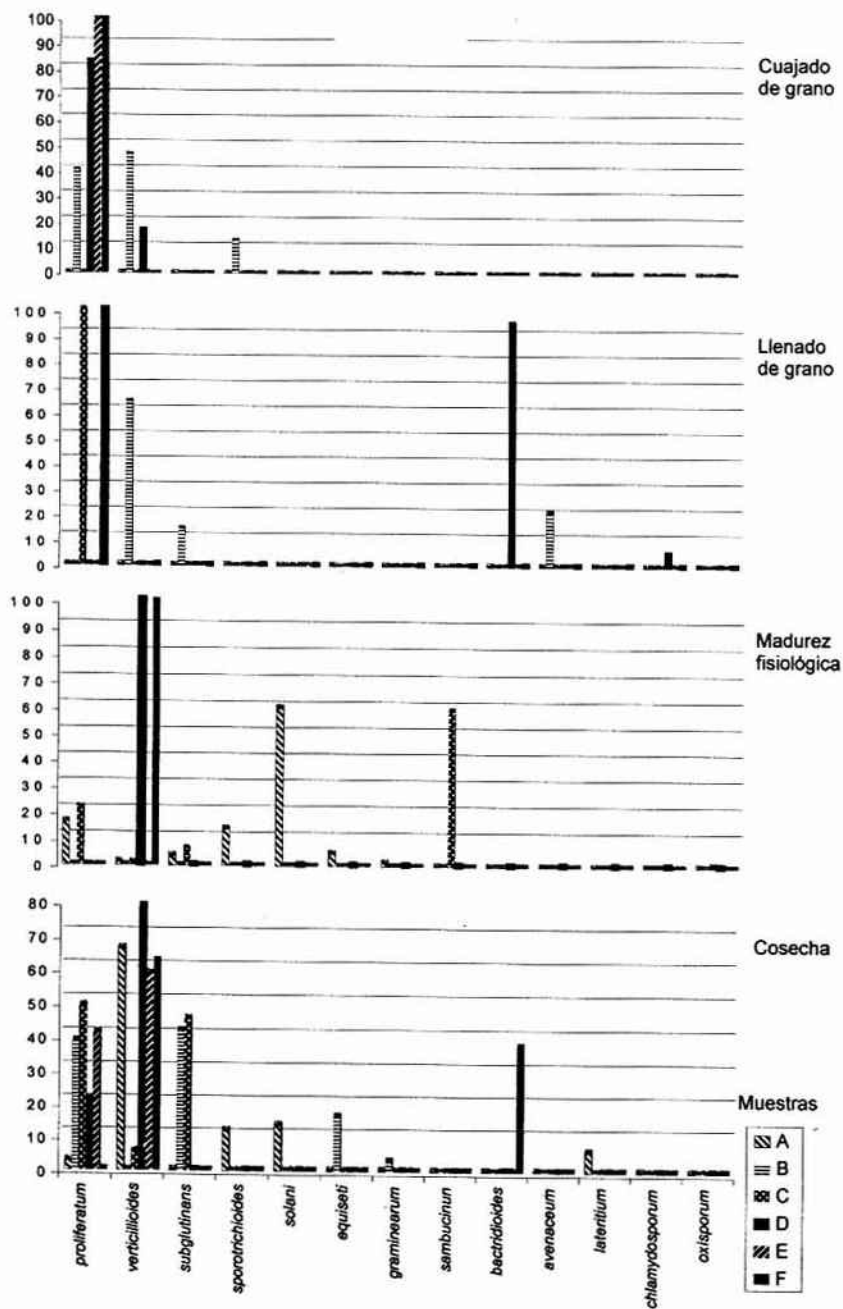
Con menor frecuencia pero distribuidas en distintos estadios del desarrollo del grano fueron halladas las especies *F. solani*, *F. equiseti*, *F. graminearum* y *F. bactridioides*. También fueron hallados en forma esporádica *F. sambucinum*, *F. avenaceum*, *F. lateritium*, *F. chlamydosporum* y *F. oxisporum*.

Tabla 1: Continuación

		Aislados de géneros fúngicos														
Muestras	Estados*	Fusarium	Ustilago	Rhizopus	Mucor	Monilia	Geotrichum	Alternaria	Penicillium	Chrysonilia	Aureobasidium	Botrytis	Epicoecum	Cladosporium	Phialophora	Verticillium
E	1	13	43	-	-	-	-	9	-	-	-	-	-	1	-	-
	2	-	-	6	3	-	5	-	-	1	-	-	-	-	-	1
	3	-	3	-	1	-	-	2	-	2	17	1	1	-	-	-
	4	17	51	-	-	-	27	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F	1	32	-	11	-	-	23	-	4	-	-	-	-	-	-	1
	2	6	-	-	-	1	47	3	7	-	-	-	-	2	-	-
	3	23	-	6	-	-	1	-	41	-	61	-	-	5	-	-
	4	24	-	28	-	-	16	-	-	-	-	3	-	-	-	-
% del total	48,7	10,9	7,7	0,4	1,3	15,9	1,2	4,7	0,3	6,9	0,3	0,1	0,8	0,6	0,2	0,2

*1- Cuijado de grano. 2- Llenado de grano. 3- Madurez fisiológica. 4- Cosecha

Figura 1: Frecuencia % de especies de *Fusarium* para los 4 estadios de formación del grano de maíz en 6 lotes del Dpto. Castellanos, Pcia. de Santa Fe, Argentina



Estudios de ocurrencia de *Fusarium* (Serie Liseola) en maíz, fueron realizados en Provincia de Córdoba - Argentina, donde las principales especies halladas fueron *F. verticillioides*, *F. proliferatum* y *F. subglutinans* (32). Según otro estudio realizado por los mismos autores (4), en los primeros momentos de formación del grano de maíz cobra importancia *F. subglutinans*, en los momentos intermedios aumenta la incidencia de *F. proliferatum* y en los momentos cercanos a la cosecha predomina *F. verticillioides*. Sin embargo en el presente trabajo constatamos que durante el cuajado de grano se da un predominio de *F. proliferatum*, en los estadios intermedios existe una variación, donde según la muestra puede predominar cualquiera de las tres especies mayoritarias, *F. proliferatum*, *F. verticillioides* o *F. subglutinans*; y en momentos cercanos a la cosecha detectamos un incremento en la incidencia de *F. verticillioides* y *F. subglutinans* y una disminución en la incidencia de *F. proliferatum*, probablemente debido a las condiciones climáticas predominantes en ambas regiones geográficas, principalmente en lo que respecta a la humedad relativa, donde éstas estarían actuando como factor limitante para el desarrollo de las especies antes mencionadas. *Fusarium verticillioides* tiene una temperatura óptima de desarrollo entre 22,5–27,5 °C (33) y requiere un a_w mínima de 0,87 a 25 °C; en tanto que *F. proliferatum*, si bien tiene una temperatura de crecimiento similar, el a_w óptimo para su desarrollo es de 0,97–0,92 a 25 °C (34). Esta diferencia en los requerimientos para su desarrollo, se pondría en evidencia en los últimos estadios de formación del grano de maíz, donde disminuye considerablemente el a_w del grano favoreciendo al desarrollo de *F. verticillioides* y no así para *F. proliferatum*.

En cuanto a la determinación de Fusaproliferina y Beauvericina, no se observó la presencia de las mismas en ninguna de las 24 muestras estudiadas, debido posiblemente a una baja capacidad toxicogénica de las cepas presentes en el grano. Por otra parte la determinación de especies de *Fusarium* al momento de cosecha no parece ser indicativa de las toxinas que puedan estar contaminando el grano de maíz. Como se ha demostrado que determinadas especies de *Fusarium* aparecen durante la formación del grano y no se han hallado en el momento de la cosecha.

Conclusiones

El Género *Fusarium* es importante en la zona como contaminante de maíz, esto coincide con otras regiones de la República Argentina a pesar de poseer diferencias climáticas y geográficas.

Se observa variabilidad respecto de las especies encontradas en función de los estadios de formación del grano, predominando al momento de la cosecha las especies pertenecientes a la sección Liseola.

Por otra parte, si bien son pocas las muestras estudiadas en la zona (Dpto. Castellanos – Pcia. Santa Fe – Argentina) no parece ser importante la contaminación de maíz con Fusaproliferina y Beauvericina, aunque para confirmar esta hipótesis se requiera realizar un estudio estadístico de ocurrencia.

Las especies identificadas son potenciales productoras de toxinas tales como Fumonisin, Tricotecenos, Zearalenona y otras cuya presencia no ha sido motivo del presente trabajo.

Bibliografía

- 1- Secretaría de Agricultura, Ganadería, pesca y Alimentación, 1997. "La siembra y la cosecha, el crecimiento del sector agropecuario y pesquero argentino". Buenos Aires, (Argentina).
- 2- Secretaría de Agricultura, Ganadería, pesca y Alimentación, 1996. "Argentina agropecuaria, agroindustrial y pesquera". Buenos Aires, (Argentina).
- 3- Ministerio de Agricultura, Ganadería, Industria y Comercio del Gobierno de la provincia de Santa Fe, Mayo-1999. "Alimentos en Santa Fe". (Argentina).
- 4- Chulze S.N., Ramirez M.L., Farnochi M.C., Pascale M., Visconti A. y March G., 1996. *Fusarium* and Fumonisin occurrence in Argentina corn at different hear maturity stage. J. Agric. Food Chem. (Argentina), **44**, 9: 2797-2801.
- 5- Fernandez Pinto V.E. y Vaamonde G., 1996. Hongos productores de micotoxinas en alimentos. Asociación Argentina de Microbiología. Revista Argentina de Microbiología, **28**, 3: 147-162.
- 6- Steinrauf L.K., 1985. Beauvericin and other enniatins. In Metal ions in Biological systems Sigel H, (ed.). Marcel Dekker: New York. U.S.A. 140-171.
- 7- Santini A., Riteni A., Fogliano V., Randazzo G., Mannina L., Logrieco A. y Benedetti E.: 1996. Structure and absolute stereochemistry of fusaproliferin, a new toxic metabolite from *Fusarium proliferatum*. J. Nat. Prod. 59:109-112.

- 8- Shemyakin M., Ovchinnikov Y.A., Ivanov V.T., Kiryushkin A.A., Zhdanov G. y Ryabora I.D., 1965. The structure antimicrobial relation of depsipeptides. *Experientia*. 21: 548.
- 9- Grove J.F. y Pople M., 1980. The insecticidal activity of beauvericin and the enniatin complex. *Mycopathologia*. 70, 2: 103-105.
- 10- Macchia L., Di Paola R., Fornelli F., Nenna S., Moretti A., Napoletano R., Logrieco A., Caiaffa F. y Botalico A., 1995. Cytotoxicity of beauvericin to mammalian cells. Abstract of the international Seminar of *Fusarium*: Mycotoxins, Taxonomy and Pathogenicity, Matina Franca. (Italia).
- 11- Ojcius D.M., Zychilinsky A., Zheng L.M. y Young J.D.E., 1991. Jonophor induce apoptosis: role of DNA fragmentation and calcium fluxes. *Exp. cell. Res.* 197:43-49.
- 12- Gaumann E., Naef-Roth S.T. and Kern H., 1960. Phytotoxic activity of the enniatin. *Phytopathol.* 40:45-51.
- 13- Ritieni A., Simona M., Randazzo G., Logrieco A., Moretti A., Peluso G., Ferracante R. y Fogliano V., 1997. Teratogenic effect of fusaproliferin on chicken embryos. *J. Agric. Food. Chem.* 45: 3039-3043.
- 14- Hocking A.D. y Pitt J.I., 1988. Two new species of xerophilic fungi and a further record of *Eurotium halophilicum*. *Mycologia*. 80: 82-88.
- 15- Hocking A.D., 1981. Improved media for enumeration of fungi from foods. *CSIRO Food Res. Q.* 41: 7-11
- 16- Kerstin A.D., Samson R.A., Hocking A.D., Pitt J.I. y King A.D., 1992. "Modern methods in food mycology". Mould counts and mycoflora in samples of species as influenced by medium and plating technique. (Netherlands). 141-143.
- 17- King A.D., Hocking A.D. y Pitt J.I., 1981. The mycoflora of some Australian foods. *Food Technol. (Australia)*. 33: 55-60.
- 18- Nirenburg H.I., 1976. Untersuchungen über die morphologische und biologische Differenzierung in der *Fusarium*-Sektion *Liseola*. Mitteilung aus der Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft. Berlin-Dahlem 169: 1-117.
- 19- Nelson P.E., Toussoun T.A. y Marasas W.F.O., 1983. *Fusarium* species an illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press. University Park and (London). 1-193.
- 20- Marasas W.F.O., Nelson P.E. y Toussoun T.A., 1984. Toxicogenic *Fusarium* species. Identify and mycotoxicology. The Pennsylvania State University Press. (London).
- 21- Wainwright M., 1992. "Introducción a la biotecnología de los hongos". Ed. Acribia. (España).
- 22- Burgess L.W., 1981. General ecology of *Fusaria*. In: Nelson P.E. & al.(eds.) *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press. University Park. (London). 225-235.
- 23- Pitt J.I. y Hocking A.D., 1997. "Fungi and food spoilage". Blackie Academic & professional. (London).
- 24- Logrieco A., Moretti A., Altomare C., Botalico A. y Carbonelli Torres E., 1993. Occurrence and toxicity of *Fusarium subglutinans* from Peruvian maize. *Mycopathologia*. 122: 185-190.
- 25- Perkowski J., 1993. Production of micotoxins in cereals by fungus of genus *Fusarium*. *Postepy Nauk Rolniczych*. 242: 67-82.
- 26- Botalico A., 1997. Toxicogenic *Fusarium* species and their mycotoxins in pre-harvest cereals in Europe. Bulletin of the Institute for Comprehensive Agricultural Sciences Kinki University. Nara. (Japan). 5: 47-62.
- 27- Thiel P.G., Gelderblom W.G.A., Marasas W.F.O., Nelson P.E. y Wilson T.M., 1986. Natural occurrence of moniliformin and fusarin C in corn screenings known to be hepatocarcinogenic in rats. *J. Agric. Food Chem.* 34: 775-780.
- 28- Dimov M., Dezotti N.O.C.R., Jakabi M. y Gelli D.S., 2000. Distribution of moulds and *Fusarium* species in Argentine and Brazilian wheat samples destined to flour wheat production. X International IUPAC Symposium on mycotoxins and phycotoxins. (Guaruja).
- 29- Gelderblom W.C.A., Jaskiewicz K., Marasas W.F.O., Thiel P.G., Horak R.M., Vleggaar R. y Kriek N.P.G., 1988. Fumonisin. Novel mycotoxins with cancer promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 1806-1811.
- 30- Shipilova N.P., 1997. Geographic distribution of *Fusarium* species on cereals in Russia. *Sydowia an International Journal of Mycology*. (Austria).
- 31- Marasas W.F.O., Kellerman T.S., Pienaar J.G. y Naude T.W., 1978. Leukoencephalomalacia: a mycotoxicosis of equidae caused by *Fusarium moniliforme* Sheldon. *J. Vet. Res.* 43: 113-122.
- 32- Chulze S.N., Ramirez M.L., March G., Pascale M. y Visconti A., 1995. Fumonisin and mating population from *Fusarium* species isolated from corn in Argentina. Abstracts of papers, International Seminar on *Fusarium* Mycotoxins Taxonomy and Pathogenicity; Martina Franca; Istituto Tossine e Micotossine da Parassiti Vegetali; CNR. Bari. (Italy).
- 33- Nirenberg., 1976. In: Nelson P.E. & al. (ed.) *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press. University Park. (London). 126-128.
- 34- Marin S., Sanchis V., Vinas I., Canela R., Magan N., 1995. Effects of water activity and temperature on growth and fumonisin B1 and B2 production by *Fusarium proliferatum* and *F. moniliforme* on maize grain. *Lett. Appl. Microbiol.* 21: 298-301.