Trabajo de Intensificación

Presencia de la micotoxina deoxinivalenol en granos de la Red Nacional de Cebada Cervecera



Alumna: Monterroso, Florencia

Tutor: Dr. Diego Zappacosta

Consejeros: Dr. Facundo Daddario

Dr. Claudio Pandolfo

Consejeros externos: Dra. Verónica Conti

Ing. Agr. Federico Moreyra Dr. Antonio Garayalde

Departamento de Agronomía Universidad Nacional del Sur Noviembre 2022

ÍNDICE

ÍNDIC	E	1
AGRA	DECIMIENTOS	2
RESU	MEN	3
1. IN	TRODUCCIÓN	4
1.1.	EL CULTIVO DE CEBADA	
1.2.	DESCRIPCIÓN DEL CULTIVO DE CEBADA	6
1.3.	FUSARIOSIS DE LA ESPIGA	
1.4.	MICOTOXINAS	
1.5. 1.6.	EFECTOS EN HUMANOS Y ANIMALES	
2. HI	PÓTESIS	14
3. OE	BJETIVOS	14
4. M	ATERIALES Y MÉTODOS	15
4.1.	MATERIAL VEGETAL	15
4.2.	LOCALIDADES	16
4.3.	CUANTIFICACIÓN DE DON	
4.4.	Análisis estadístico	
4.5.	ANÁLISIS DE MAPAS DE RIESGO	19
5. RE	ESULTADOS	20
5.1. 5.2.	EFECTO DEL GENOTIPO Y LA APLICACIÓN DE FUNGICIDA EN LOS NIVELES DE DON DESCRIPCIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE LOS NIVELES DE DON EN LAS DISTINTAS LOCAL	IDADES
5.3.	IADAS	
6. DI	SCUSIÓN	25
6.1.	Tratamiento	25
6.2.	GENOTIPO	
6.3.	LOCALIDAD	27
7. CC	ONCLUSIONES	28
8. BI	BLIOGRAFÍA	29
0 44	NEVO	22

Agradecimientos

A la Universidad Nacional del Sur y al Departamento de Agronomía, por su calidad en la enseñanza, y por haberme otorgado las herramientas necesarias para mi formación profesional.

Al Dr. Diego Zappacosta, mi tutor y guía en esta recta final, por haberme dado la posibilidad de realizar el trabajo con él. Por el tiempo y la ayuda brindada, estando siempre predispuesto a responder mis dudas e inquietudes.

A los consejeros, Dr. Facundo Daddario y Dr. Claudio Pandolfo, por tomarse el tiempo para hacer sus valiosas correcciones y sugerencias.

A la Dr. Verónica Conti y al Ing. Agr. Federico Moreyra, de INTA Bordenave, por haber proveído los materiales necesarios para llevar a cabo este trabajo. También al Dr. Antonio Garayalde por ayudarme en los análisis estadísticos.

A mi mamá José, por el amor, por el apoyo y por siempre darme el empujón para seguir adelante. A mi papá Omar, que desde otro lugar, me acompañó hasta el último final que rendí y fue mi motor para que nunca baje los brazos. Estaré eternamente agradecida por todo lo que hicieron por mí.

A mi novio Agus, por el apoyo incondicional de todos estos años y por haber sido mi sostén en los momentos más difíciles de este largo camino.

A mis hermanos, Gasty, Juli y Ro por acompañarme siempre. A mis cuñados, en especial a Mauri por ayudarme siempre que lo necesité.

A mis sobrinos India y Bono, por hacer que este último tiempo sea uno de los más felices de mi vida.

A mis amigas, Pachu y Flor, por las horas de estudio, la compañía, las risas y los llantos, nadie más que ellas saben el esfuerzo de todos estos años.

A mis amigos de la Uni y de la vida, por siempre estar presentes, por hacerme transitar esta etapa mucho más fácil, por las charlas, los mates, los viajes, sin duda fueron un pilar muy importante.

Sin su incondicional apoyo, nada hubiera sido posible.

¡A todos infinitas gracias!

RESUMEN

La fusariosis de la espiga es una de las enfermedades que ocasionan mayor daño a varios de los cereales, principalmente trigo y cebada. Es causada por especies del género Fusarium, especialmente F. graminearum. Su incidencia y severidad depende de la presencia de condiciones ambientales favorables, tales como lluvias y alta humedad relativa en el momento de floración, ya que hay poca resistencia genética y el patógeno está ampliamente distribuido en las zonas de producción de cereales. En cebada, la fusariosis de la espiga afecta a la industria cervecera al disminuir el poder germinativo y presentar micotoxinas como deoxinivalenol (DON) en semilla. En Argentina, a raíz de epidemias recientes, las malterías han debido extremar los controles de los lotes que reciben, rechazando aquellos cuyo nivel de DON supera los valores de tolerancia establecidos (0,5 ppm). En la Red Nacional de Cebada Cervecera (REC) se evalúan anualmente cultivares comerciales y líneas avanzadas, tanto en aspectos de rendimiento, como de calidad y sanidad. El objetivo del presente trabajo fue cuantificar el contenido de DON en granos de cebada obtenidos de ensayos de la REC (campaña 2019), con el fin de identificar genotipos con mejor comportamiento y localidades con mayor presencia de DON, y observar la asociación de los niveles de DON encontrados con el Índice de Fusarium desarrollado para trigo en nuestro país. Se evaluaron un total de 16 genotipos, incluyendo 10 cultivares comerciales (Aliciana, Andreia, Charles, Danielle, Fatima, Jennifer, Montoya, Overture, Sinfonia y Traveler) y 6 líneas experimentales de cebada cervecera, en 17 localidades de la campaña 2019 de la REC (9 de Julio, Alberti, Balcarce, Barrow, Bigand, Bolívar, Bordenave, Chillar, Coronel Dorrego, Ferré, Junín, Justiniano Posse, La Dulce, Marcos Juárez, Miramar, Oliveros y Rojas). Además, se realizó un tratamiento con fungicida para cada genotipo y localidad. La cuantificación de DON se realizó en un equipo Quickscan (Envirologix), utilizando tiras reactivas DON Flex AQ-304-BG. Se detectó la presencia de DON en 10 de las 17 localidades evaluadas. No se detectaron diferencias significativas entre el tratamiento con fungicida y el control, por lo que ambas muestras se tomaron como réplicas. Considerando sólo los ambientes con DON, se observaron diferencias significativas (p<0,05) entre genotipos. Los mayores valores de DON se encontraron en Oliveros, con un promedio superior a 1 ppm (1,497 ppm). La campaña 2019 se caracterizó por niveles bajos de Índice de *Fusarium* en toda la región pampeana, lo cual se vio reflejado en los bajos valores encontrados en este trabajo. Sólo se detectó DON en las localidades de mayor riesgo, no obstante, en aquellos ambientes con menor Índice no fue detectada la presencia de DON. Una excepción fue Balcarce, en donde el Índice fue relativamente alto, sin embargo, no se detectó presencia de DON en las muestras de la REC.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. El cultivo de cebada

La cebada (*Hordeum vulgare*) es un cereal invernal muy difundido a nivel mundial ocupando el cuarto lugar en superficie sembrada, después del trigo, del maíz y del arroz. Actualmente, entre los productores más importantes del mercado se encuentran la Unión Europea, Rusia, Canadá, Australia, Ucrania, Turquía, Kazajstán y Argentina. En la Tabla 1 se puede observar que nuestro país se encuentra en el octavo puesto con una producción de 4.000.000 tn.

Tabla 1. Producción mundial de cebada cervecera. Fuente: E-malt.com/USDA.

Cebada:	•	miles de to		ıı por p	aises
País	2014/15	2015/16	2016/17	2017/18f	2018/19
Unión Europea	60.609	62.095	59.978	59.064	57.250
Rusia	20.026	17.083	17.547	20.183	16.500
Canadá	7.117	8.257	8.839	7.900	8.800
Australia	8.646	8.993	13.506	8.900	7.800
Ucrania	9.450	8.751	9.874	8.695	7.600
Turquía	4.000	7.400	4.750	6.400	7.400
Kazajistán	2.412	2.675	3.231	3.305	4.200
Argentina	2.900	4.940	3.300	3.740	4.000
EE.UU.	3.953	4.750	4.353	3.090	3.333
Irán	3.200	3.200	3.000	3.100	3.100
Marruecos	1.638	3.400	620	2.000	2.500
Etiopía	1.953	2.047	2.025	2.100	2.170
China	1.810	1.870	1.752	1.800	1.850
India	1.831	1.613	1.440	1.750	1.770
Bielorrusia	1.988	1.849	1.253	1.420	1.700
Argelia	1.300	1.300	1.000	968	1.400
Otros	9.151	9.552	10.699	9.856	9.881
Total mundial	141.984	149.775	147.167	144.271	141.254

En Sudamérica, Argentina es el mayor productor de cebada, especializándose en cebada cervecera, la cual ha tenido un desarrollo importante en la última década. Actualmente, a nivel nacional la superficie sembrada se encuentra cercana al millón de hectáreas y el rendimiento promedio se encuentra cercano a los 4.000 kg ha-1. En los últimos años, se incrementó notablemente la superficie cultivada en detrimento de la de trigo, especialmente en zonas con mejor nivel productivo como es el SE de la provincia de Buenos Aires, obteniéndose al mismo tiempo rindes mayores. Una ventaja de la inclusión de cebada en nuevas áreas es el anticipo de la cosecha con respecto a la de trigo, lo cual permite mejores y más estables rendimientos en soja de segunda.

En la Figura 1 se puede observar la superficie sembrada de cebada cervecera en cada distrito, donde se estima que más del 90% de la producción se ubica dentro del territorio de la provincia de Buenos Aires. En menor proporción participan las provincias de La Pampa, Córdoba, Santa Fe y Entre Ríos. Esta distribución está influenciada por la localización de las malterías, las áreas de mejoramiento genético y los puertos de exportación. Es importante destacar que el 80% de la producción nacional de cebada tiene destino de exportación, ya sea como malta o grano, aquí la importancia de la cercanía al puerto.

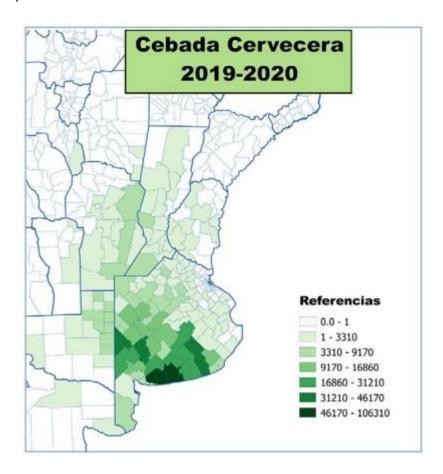


Figura 1. Superficie sembrada (en has) de cebada cervecera en la campaña 2019/2020. Tomado de SISA (2020).

La cebada cervecera es un cultivo que depende y está impulsado activamente por la industria de la malta o malterías. Estas reciben todo lo que se produce por contratos y se cosecha con calidad apta para maltería. Una vez abastecidas, exportan los excedentes de cebada cervecera, siendo muy insignificante la superficie destinada originalmente a cebada forrajera. Las partidas o lotes de cebada cervecera que no cumplen con las condiciones de calidad para la fabricación de malta se destinan a exportación con la modalidad de cebada en grano, destinada a forraje, llamada cebada forrajera pero que en realidad se trata de semilla de cebada cervecera.

1.2. Descripción del cultivo de cebada

La cebada (*Hordeum vulgare*) es una planta anual de la Clase Monocotiledoneae, perteneciente a la familia Poaceae. Presenta variedades de dos hileras destinadas a la producción de cerveza y variedades de seis hileras que se usan para forraje, vulgarmente denominadas cebadas cerveceras y cebadas forrajeras, respectivamente.

La cebada puede clasificarse según los requerimientos de vernalización, existiendo del tipo invernal o primaveral. La denominación de "variedades de invierno" se ha considerado sinónimo de aquellas que requieren vernalización (período de acumulación de horas de frío necesarias para que el cultivo pueda llevar a cabo normalmente su desarrollo), además suelen experimentar una aceleración del desarrollo en los días largos y tienen resistencia a daños por heladas.

En Argentina se utilizan las que se denominan de invierno, realizándose la siembra a partir de mayo y se cosecha desde noviembre. Por último, según su destino final se clasifican en: producción de malta (cerveceras), producción de forraje (forrajeras) y alimentación humana. El mejoramiento genético de la cebada está principalmente enfocado hacia la producción de cebada cervecera, con dos grandes objetivos, aumentar el rendimiento en grano por unidad de superficie y obtener granos que cumplan con los requisitos de calidad comercial e industrial. Estos requisitos se definen en base a la elaboración de cerveza, principal destino industrial en nuestro país. Si hablamos de calidad comercial, nos referimos a parámetros tales como capacidad germinativa, calibre de grano y contenido de proteína, tenidos en cuenta en la norma de Calidad y Comercialización de Cebada (Resolución N° 27/2013) (ver detalle en Anexo).

1.3. Fusariosis de la espiga

La fusariosis de la espiga es una de las enfermedades que ocasionan mayor daño a varios de los cereales, principalmente trigo y cebada. Afecta a la industria cervecera al disminuir el poder germinativo, presentar micotoxinas como deoxinivalenol (DON) en semilla y también a los subproductos que son utilizados para alimentación animal (Steffenson, 2003). Es causada por especies del género *Fusarium*, como *F. graminearum*, *F. poae* y *F. culmorum*, siendo la primera la principal en nuestro país. La incidencia y severidad depende de la presencia de condiciones ambientales favorables, tales como lluvias y alta humedad relativa en el momento de floración, ya que hay poca resistencia genética y el patógeno está ampliamente distribuido en las zonas de producción de cereales. Las lluvias crean el ambiente óptimo para que las especies de *Fusarium* inicien la infección en antesis (Palazzini et al., 2016). Un estudio sobre test de sanidad en semillas de trigo y cebada realizado por profesionales de la Asociación de

Laboratorios Agropecuarios Privados (ALAP), determinaron la prevalencia/incidencia promedio durante una década y los resultados mostraron que en cebada fue de 72,2 / 7,5% para *Fusarium* spp., 87,5 / 31,1% para *Alternaria* spp., 53,8 / 2,7% para *Bipolaris* spp. y 47,6 / 2,1% para *Drechslera* spp. (https://elabcrural.com/trigo-y-cebada-la-presencia-y-carga-de-hongos-en-semillas-es-muy-similar/).

Fusarium graminearum Schwabe es un hongo necrotrófico y posee un amplio rango de hospedantes, principalmente gramíneas. Su alta capacidad saprofítica le facilita colonizar rastrojos de especies no gramíneas como la soja. En los residuos de cosecha se forman los peritecios (fase sexual que corresponde al teleomorfo *Gibberella zeae* Schw. & Petch). Con temperaturas y humedad adecuadas y en presencia de luz, los peritecios maduran y liberan las ascosporas formadas en su interior (Figura 2). Estas son dispersadas por el viento y constituyen la principal fuente de inóculo para las infecciones primarias. Los conidios (esporas de origen asexual), así como el micelio, son igualmente eficientes para la infección, pero a causa del mecanismo de dispersión, solo las ascosporas (esporas de origen sexual) tienen un rol preponderante en el proceso. El patógeno ingresa principalmente por las anteras en el estadio de floración, pero también puede infectar por penetración directa o por estomas a la gluma, lemma, palea o raquilla. Luego coloniza el raquis y otras espiguillas. El hongo puede provocar esterilidad de flores y la formación de granos poco desarrollados, arrugados y de bajo peso, en el caso en que estos lleguen a formarse, disminuyendo los rendimientos.

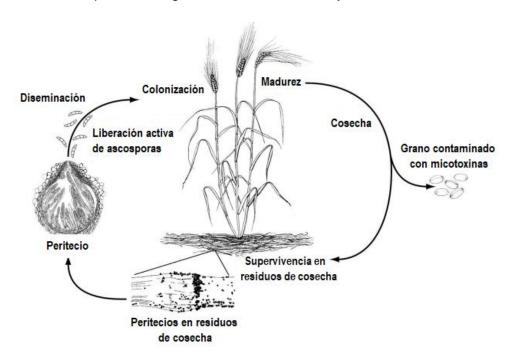


Figura 2. Ciclo de la fusariosis de la espiga ocasionada por F. graminearum. Adaptado de Trail (2009).

La sintomatología aparece en el lote en plantas aisladas o distribuida en manchones; puede atacar toda la espiga o a espiguillas por separado (Figura 3). Las semillas infectadas que no se logran eliminar mediante los sistemas de clasificación y que luego, al ser sembradas bajo ciertas condiciones ambientales, fundamentalmente en suelos secos y cálidos, pueden desarrollar la enfermedad conocida como "tizón de la plántula". Aquí se manifiesta debilitamiento o muerte de las plántulas, con la consiguiente reducción del número de plantas del cultivo (Steffenson, 2003). Esta enfermedad no tiene influencia como inóculo en la fusariosis de la espiga, dado que en esta última proviene fundamentalmente de la fase sexual (peritecios) presentes en restos (Figura 2).

En trigo, cuando la infección ocurre en el inicio de floración, habrá una destrucción total del grano en formación, provocando granos arrugados, chuzos, con apariencia áspera y de coloración blanco-rosada por el crecimiento superficial del hongo (Steffenson, 2003). Sin embargo, es de destacar que muchos granos a pesar de no tener estos síntomas y signos pueden estar igualmente infectados por el hongo. La cebada de dos hileras es menos susceptible que el trigo ya que contiene menos flores por espiquilla, por ende, menor cantidad de anteras expuestas y también por tener grano vestido. Además de ello cuando se produce la floración, la mitad o más del grano ya está formado, ya que la fecundación ocurre cuando la espiga se encuentra dentro de la vaina de la hoja bandera (Miralles et al., 2014).

De las enfermedades de los cereales de invierno, la fusariosis de la espiga es la que presenta las mayores dificultades para su control y por lo tanto es un permanente desafío para fitomejoradores y fitopatólogos. La rotación es la práctica recomendada, ya que el inóculo queda en los restos en el lote, siendo estos la principal fuente. El control químico es otra de las herramientas con que cuentan los productores de trigo y cebada, sin embargo, su eficiencia no es muy alta por la dificultad de los fungicidas sistémicos en llegar a las anteras y partes florales (los más eficientes son los de contacto y requieren más de una aplicación). Los mejores resultados se hallaron usando mapas de riesgo basados en modelos de predicción y datos climáticos, como los elaborados por el Instituto de Clima y Agua del INTA Castelar (Moschini et al., 2013). Por otra parte, la resistencia genética sería la mejor opción para el manejo de esta enfermedad, sin embargo, es escasa en trigo y muy incipiente en cebada (Steffenson, 2003).



Figura 3. Síntomas ocasionados por F. graminearum en cebada de seis hileras (A) y dos hileras (B). Fuente: Department of Agriculture and Aquaculture, Canadá (https://daafmaapextweb.gnb.ca/010-002/Details.aspx?Culture=en-CA&Id=254&Pid=1091).

1.4. Micotoxinas

Las micotoxinas son producidas por distintas especies de hongos como parte de su metabolismo secundario y su rol principal es generar un estrés o debilitamiento en el hospedante, siendo además tóxicas en bajas concentraciones para los vertebrados (Desjardins, 2006). Son moléculas relativamente pequeñas (peso molecular <700 g/mol). La mayor parte de estos metabolitos secundarios se originan en la ruta policetónica.

Las micotoxinas pueden contaminar alimentos o las materias primas utilizadas para su elaboración, originando un grupo de enfermedades y trastornos, denominados "micotoxicosis". Se considera que *Fusarium* es el género productor de toxinas de mayor prevalencia. Dentro de las toxinas más comunes encontramos principalmente tricotecenos, zearalenona, moniliformina y fumonisinas. Una característica importante del género es que una misma micotoxina puede ser producida por distintas especies, y que una especie puede producir diferentes micotoxinas a la vez, por lo que en un mismo

sustrato podemos encontrar más de un metabolito. *Fusarium graminearum* puede producir micotoxinas denominadas tricotecenos (Figura 4), que incluyen principalmente al nivalenol (NIV) y deoxinivalenol (DON) (Varga et al., 2013. Los tricotecenos son producidos en el tejido de las plantas antes que se produzca el crecimiento visible del hongo.

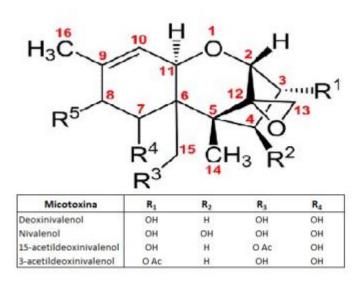


Figura 4. Estructura química básica de los tricotecenos. Fuente: McCormick et al. (2011).

La fitotoxicidad del DON se asocia a la capacidad de inhibir la síntesis proteica y de desencadenar la muerte celular debido a la pérdida de electrolitos. DON es soluble en agua y avanza por delante de las hifas colonizadoras. Tres días después de la infección, la toxina se localiza en los haces vasculares del raquis y a los 10 días se detecta en espiguillas aún no colonizadas, debido a su movilización basípeta y acrópeta por el floema del raquis (Pritsch et al., 2000).

1.5. Efectos en humanos y animales

Los tricotecenos DON y NIV no sólo son importantes por su papel en la capacidad patógena de *F. graminearum* sobre cebada y otras especies, sino que también juegan un papel muy importante en la salud animal, principalmente cerdos y pollos (Luo, 1991). Estos provocan una amplia variedad de perjuicios incluyendo mortalidad, irritación, necrosis gastrointestinal y de piel, desórdenes hematológicos (inicialmente leucocitosis seguida de leucopenia), diarreas, vómitos, pérdida de apetito, dolores de cabeza y vértigos (Bennett & Klich, 2003). El ganado vacuno es más tolerante a la presencia de DON ya que es detoxificado por las bacterias del rumen (Charmley et al., 1993). La presencia de importantes micotoxicosis en humanos relacionadas con la contaminación de alimentos con DON, ha sido citada en Japón y en otras partes del mundo (Miller,

1990). Hasta el momento, no se ha podido probar que las toxinas tengan efectos cancerígenos (Champbeil et al., 2004). A pesar de ello, como resultado de los efectos adversos que provocan las micotoxinas, muchos países han incluido límites máximos de DON en productos de consumo humano y animal. La regulación de granos contaminados con micotoxinas varía entre regiones y/o países del mundo. En los EE.UU., la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) ha publicado pautas de asesoramiento que recomiendan 1 ppm o menos, en productos terminados de trigo (por ejemplo, harina, salvado y germen), que potencialmente pueden ser consumidos por humanos (FDA, 2010). Las regulaciones en la Unión Europea (UE) estipulan un máximo de 1,25 ppm para cereales sin procesar y 0,75 ppm para cereales destinados al consumo humano directo (Micotoxins Info, 2010). Las regulaciones en Brasil especifican 1 ppm o menos para granos de trigo y cebada, y 0,75 ppm para cebada malteada y harina de trigo (ANVISA, 2016).

En nuestro país, actualmente el Comité del Codex sobre Contaminantes en los Alimentos establecen como límites máximos 1 ppm de DON en productos a base de cereales (harinas) y límite máximo 0,2 ppm de DON en alimentos a base de cereales para lactantes y niños de corta edad (Artículo 156 quater – Resolución Conjunta SRYGS y SAB Nº22/2019). Sin embargo, las malterías tienen límites en gran medida autoimpuestos, ya que no existen regulaciones en cuanto a la malta o la cerveza. Debido a las epidemias recientes, la industria maltera ha debido extremar los controles de los lotes que reciben, rechazando aquellos cuyo nivel de DON supera las 0,5 ppm. En años con alta incidencia de la enfermedad, ABInbev Argentina ha subido este máximo a 2 ppm, lo que hace que la gran mayoría de los lotes de la Zona Sur cumplan este requisito. En la zona Centro Norte donde, al haber mayores temperaturas y precipitaciones en el llenado de grano, es mayor la presencia de micotoxinas. Cargill también ha flexibilizado la política de recibo, lo que ha hecho que se reciban la gran mayoría de los lotes. Para cebada forrajera, las especificaciones en cuanto a DON son mucho más laxas, en muchos países se admiten hasta 5 ppm de DON (Cortese, 2019).

1.6. Micotoxinas en cerveza

En términos de seguridad alimentaria, la cerveza generalmente se considera un producto de bajo riesgo. De hecho, una creencia popular es que desde la Edad Media hasta los primeros tiempos modernos, era mucho más seguro consumir cerveza que agua. La seguridad de la cerveza se relaciona con el hecho de que se aplica mucho calor en la producción de granos malteados. El extracto de estos granos (mosto) se hierve y el producto envasado final a menudo se pasteuriza. Además, ocurre un efecto

bacteriostático dado por el lúpulo y algunos compuestos derivados de la fermentación de la cerveza. Estos últimos producidos por una variedad de levaduras y bacterias silvestres, como *Lactobacillus* y *Pediococcus*, especies más comunes en la cerveza (Middlekauff, 1995).

Varios estudios han demostrado que el DON se encuentra con frecuencia en la cebada y en la cerveza, y que sus niveles pueden aumentar durante el malteado (Kostelanska et al., 2009; Varga et al., 2013). La selección de granos con bajo contenido de DON, el almacenamiento adecuado y las modificaciones del proceso son a menudo, pero no siempre, eficaces para reducir los niveles de DON en la malta. Evitar que los lotes altamente contaminados ingresen a la cadena de procesamiento da como resultado bajos niveles de DON en la cerveza comercial.

Las preocupaciones originales de los cerveceros en cuanto a la utilización de granos infectados con *Fusarium* estaban relacionadas con la pobre germinación, el daño al grano y la calidad de la cerveza, y una mayor propensión de la cerveza al *gushing*. Si bien estos factores siguen siendo importantes, el enfoque principal desde la década de 1990 ha sido la presencia de micotoxinas en los granos de cebada y su posible transferencia a la cerveza terminada. Una infección de cebada con especies de *Fusarium* da como resultado la producción de enzimas o metabolitos que dañan los componentes del grano y, en consecuencia, afectan la calidad de la malta y la cerveza. Se citan con frecuencia la alteración del almidón, las proteínas y los polisacáridos de la pared celular (Schwarz et al., 2002; Oliveira et al., 2013). Los efectos más pronunciados de la fusariosis de la espiga sobre la calidad de la malta están relacionados con el aumento en la proteína soluble del mosto, el amino nitrógeno libre (FAN) y el color, todos los cuales están asociados con la proteólisis (Schwarz et al., 2006).

El *gushing* es la liberación descontrolada de dióxido de carbono que genera una espuma excesiva cuando se destapa una botella de cerveza. Los casos leves pueden producir un ligero exceso de espuma, mientras que en los casos graves se puede perder más de la mitad del contenido de la botella (Gabe et al., 2008). Este evento se puede atribuir a una serie de factores, que pueden incluir la malta, los iones metálicos, el oxalato de calcio, los detergentes, los extractos de lúpulo y las superficies ásperas del interior de las botellas. Sin embargo, varias especies de *Fusarium* han sido asociadas al fenómeno, al igual que especies de *Aspergillus, Stemphylium, Rhizopus, Nigrospora* y *Trichoderma*. El *gushing* es complejo, pero se relaciona con factores que reducen la tensión superficial de la fase líquida que rodea las burbujas de la cerveza. Se sabe que las hidrofobinas son proteínas altamente tensioactivas, moderadamente hidrófobas y

son producidas por muchos géneros de hongos filamentosos (Sarlin et al., 2012). La proteína fugispumin de *F. culmorum*, también se ha identificado como potenciador de este fenómeno (Zapf et al., 2007). Las proteínas de transferencia de lípidos (LTP) producidas por el grano en respuesta a una infección también pueden estar involucradas (Hippeli & Elstner, 2002). Trabajos recientes en cebada y malta han demostrado que *F. culmorum*, *F. graminearum* y *F. tricinctum* son importantes inductores del *gushing* (Virkajärvi et al., 2017). En conclusión, este último no estaría directamente asociado al DON, pero indirectamente lo está porque la micotoxina es evidencia de la infección por especies de *Fusarium*, las cuales producen otras sustancias que sí lo ocasionan.

La información acerca de los niveles de DON que se presentan luego de epifitias de fusariosis de la espiga en los genotipos cultivados en Argentina es muy limitada. Asimismo, el comportamiento diferencial de variedades en cuanto a este parámetro y el efecto de ciertas prácticas de manejo del cultivo no se conoce con exactitud, así como tampoco cómo varían estos niveles en relación a condiciones predisponentes para la enfermedad. Generar información de este tipo sería de gran utilidad para mejorar aspectos de manejo de esta problemática.

2. HIPÓTESIS

- 1) Los niveles de DON que se encuentran en granos de cebada como consecuencia de la infección de *Fusarium graminearum* varían de acuerdo:
- a) al genotipo de cebada cultivado.
- b) a la aplicación de fungicida foliar.
- 2) Se observan mayores niveles de DON en cebadas cultivadas en localidades donde se presenta mayor intensidad de la enfermedad.

3. OBJETIVOS

- Identificar genotipos de cebada cervecera con mejor comportamiento a la enfermedad teniendo en cuenta los niveles de DON.
- Verificar si existe efecto de la aplicación de fungicida foliar en el desarrollo de la enfermedad, a través de la determinación de DON.
- Asociar en forma preliminar los niveles de DON encontrados con el Índice de Fusarium desarrollado para trigo en nuestro país.
- Obtener información acerca de la tendencia de ciertos genotipos o localidades a ser más propensos a superar valores mínimos de DON.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Material vegetal

Para el trabajo se utilizaron granos de cebada cervecera de la Red Nacional de Cebada Cervecera (REC) campaña 2019 provistos por los Ing. Agrs. Verónica Conti y Federico Moreyra del grupo de Mejoramiento y Calidad Vegetal del INTA Bordenave. Dicho grupo coordina la REC, que es un Convenio de Asistencia Técnica con la Cámara de la Industria Cervecera Argentina (integrada por las empresas AB-InBev, Boortmalt y Cerfoly de Argentina) y todos los años se realizan ensayos de evaluación de rendimiento y calidad comercial de cultivares y líneas experimentales de cebada cervecera (Figura 5).



Figura 5. Parcelas de la REC en Bordenave. Fuente: Red Nacional de Cebada Cervecera – REC Campaña 2019.

El experimento incluyó 10 cultivares comerciales (Aliciana, Andreia, Charles, Danielle, Fátima, Jennifer, Montoya, Overture, Sinfonia y Traveler) y seis líneas experimentales de cebada cervecera (L1-2019 a L6-2019).

La densidad de siembra fue de 250 plantas logradas por m². Previamente la semilla fue tratada con los curasemillas Sistiva® (Fluxapyroxad 33% + Triticonazole 10%) y Premis® (Triticonazole 10%). La fertilización y el control de malezas se ajustaron a las necesidades y potencial de rinde de cada ambiente.

Se realizó un tratamiento con el fungicida foliar Orquesta Ultra® (Fluxapyroxad 5% + Pyraclostrobin 8,1% + Epoxiconazole 5%), a una dosis de 1200 cm³/ha, en estado de hoja bandera. Otra repetición se dejó sin aplicación de fungicida para la observación de enfermedades presentes en cada ambiente y la evaluación de la respuesta de cada material frente a la aplicación del fungicida foliar.

4.2. Localidades

Las localidades incluidas en la red de cebada en el 2019 fueron: 9 de Julio, Alberti, Balcarce, Barrow, Bigand, Bolívar, Bordenave, Chillar, Coronel Dorrego, Ferré, Junín, Justiniano Posse, La Dulce, Marcos Juárez, Miramar, Oliveros y Rojas. En la Tabla 2 puede observarse los datos de ubicación y fechas de siembra, emergencia y cosecha.

Tabla 2. Detalle de las localidades incluidas en la REC campaña 2019.

Ambiente	Fecha de	Fecha de	Fecha de	GF	os .
7 11115161166	siembra	emergencia	cosecha		
Bordenave	02-07-19	27-07-19	09-12-19	37° 76′ 25.5″S	63° 09′ 80.0″O
Marcos Juárez	22-06-19	08-07-19	02-12-19	32° 43′ 4.04″S	62° 4′ 50.31″O
Barrow	28-06-19	20-07-19	09-12-19	38° 20′ S	60° 13′ O
Oliveros	26-06-19	12-07-19	27-12-19	32° 57′ 29.07″S	60° 87′ 47.12″O
Balcarce	11-07-19	29-07-19	18-12-19	37° 45′ 4.02″S	58° 17′ 55.1″W
Ferré	26-06-19	-	09-12-19	34° 5′ 4.04″S	61° 8′ 31.39″O
Bigand	24-06-19	-	09-12-19	33° 26′ 24.86″S	61° 8′ 41.56″O
Justiniano Posse	27-06-19	-	25-11-19	32° 53′ 30.43″S	62° 22′ 12.78″O
Dorrego	22-06-19	-	23-12-19	38° 42′ 30.64″S	61° 6′ 36.92″O
Chillar	25-07-19	-	13-01-20	37° 20′ 12.49″S	59° 57′ 26.39″O
Alberti	24-06-19	14-07-19	-	35° 06′ 00″S	60° 12′ 00″W
Miramar	24-06-19	13-07-19	19-12-19	38° 10′S	58° 0″O
Junín	28-06-19	13-07-19	17-12-19	34° 28′ 57.83″S	60° 52′ 33.05″O
La Dulce	22-06-19	17-07-19	19-12-19	38° 19′ 42″	59° 01′09″
Bolívar	17-07-19	-	13-12-19	36° 20′ 07.5″S	61° 00′ 11.3″O
Rojas	25-06-19	-	01-12-19	34° 12′ 48.68″S	60° 38′ 56.03″O
9 de Julio	14-06-19	28-06-19	25-11-19	35° 26′ 47.99″S	60° 49′ 21.31″O

4.3. Cuantificación de DON

Para la evaluación de DON se utilizó una sola muestra de grano por genotipo y localidad y cada tratamiento (con y sin aplicación de fungicida). La cuantificación se realizó mediante el equipo Quickscan (Envirologix, Portland, Maine, EEUU), utilizando las tiras reactivas DON Flex AQ-304-BG (Envirologix). Las determinaciones se realizaron en el laboratorio del grupo de Mejoramiento y Calidad Vegetal del INTA Bordenave siguiendo el protocolo propuesto por Envirologix (https://www.youtube.com/watch?v=JROoB7Dn 20). El equipo para la medición y las tiras reactivas fueron facilitados por gentileza de la empresa Brascorp (www.brascorp.com.ar).

El equipo QuickScan permite leer las tiras de flujo lateral, similares a una prueba de embarazo, que funcionan al exponer una tira de medio de prueba a una muestra de líquido para identificar la presencia de micotoxinas. La tecnología de diagnóstico se basa en la prueba de inmunoensayo ELISA (del inglés, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) que es una técnica en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo específico enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como cambio de color. Este último permite medir indirectamente mediante espectrofotometría la cantidad de antígeno en la muestra.

A continuación, se describe el procedimiento utilizado (Figura 6):

<u>Procedimiento</u>

- Se pesaron 20 g de molienda en un frasco hermético de 150-200 mL, con tapa a rosca.
- Se agregaron 100 mL agua destilada (5 mL por gramo de muestra) a temperatura ambiente (Figura 6A).
- Se tapó el frasco y se agito 30 segundos.
- Se filtró con filtro grosor 0,22 mm, peso base 53 g m⁻², durante un máximo de 2 minutos (Figura 6B).
- Se colocaron 100 μL de Buffer en un tubo de reacción (provisto por el kit) previamente colocado en la incubadora.
- Se colocaron 100 μL de filtrado (o sobrenadante) en el mismo tubo de reacción y se mezcló absorbiendo y expulsando con el mismo tip de la micropipeta.
- Se dejó en incubadora a 22°C durante 1-2 minutos (Figura 6C).
- Se colocó la tira reactiva en el tubo de reacción y se dejó reposar 2 minutos (Figura 6D).

- Se extrajo la tira reactiva, se cortó extremo inferior rosa y se colocó en el equipo Quickscan (Figura 6E).
- Se presionó LEER PRUEBA en la pantalla y se registró el resultado (Figura 6F y 6G).



Figura 6. Cuantificación de DON utilizando el kit y equipamiento Quickscan. A. Muestra molida. B. Incorporación de agua a la muestra y filtrado. C. Incubadora con tubos de reacción. D. Tiras reactivas en tubos de reacción. E. Colocación de tiras reactivas en dispositivo de lectura. F. Lectura de tiras reactivas. G. Resultados.

4.4. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para determinar si existían diferencias entre los valores promedio de DON. Para el análisis de ANOVA se consideraron solo los ambientes con presencia de DON (9 localidades). Marcos Juárez fue descartado para el análisis porque solo se contó con muestras del tratamiento sin fungicida (no se realizó el tratamiento con fungicida). Se utilizó un modelo en bloques completamente aleatorizados, considerando las localidades como bloques. Los factores evaluados fueron el genotipo y el fungicida (con o sin aplicación). Los datos fueron agrupados al no detectarse interacción genotipo*fungicida (p>0,05). Las medias fueron comparadas mediante el test de DMS de Fischer (p<0,05). Todos los análisis se realizaron mediante el software estadístico INFOSTAT (Di Rienzo et al., 2015).

4.5. Análisis de mapas de riesgo

El desarrollo de las enfermedades fúngicas en las plantas y su epidemiología depende, entre otros factores, de las condiciones climáticas favorables (Carmona et al., 2012). Para la fusariosis de la espiga, conocer el ambiente es de fundamental importancia ya que es el protagonista directo más relacionado con la severidad de la enfermedad. Para estimar los valores de la enfermedad existen modelos que han sido desarrollados en Argentina por Moschini y Fortugno (1996), Moschini et al. (2002) y Moschini et al. (2008).

Para la realización de los mapas se utilizó el sistema de pronóstico elaborado por Moschini et al. (2002) para trigo, ya que no existe para cebada. Este modelo combina elementos derivados de un enfoque empírico (ecuaciones) y fundamental (estudios en ambiente controlado), otorgando una estimación de la evolución del Índice de *Fusarium* [incidencia (%) x severidad (%) / 100] a lo largo del período crítico del cultivo (espigas con anteras expuestas). En esa ecuación, la variable hídrica establece el total de períodos de dos días con registro de lluvia y humedad relativa >81% (día 1) y una humedad >= 78% (día 2), mientras que la variable térmica acumula diariamente el residual >26°C y <9°C en temperatura máxima y mínima, respectivamente. Las variables se calculan en el lapso que va desde la aparición de las primeras espigas con anteras hasta acumular 530 grados día (26 a 32 días), luego se confeccionan mapas presentando la distribución espacial del grado de riesgo estimado (ver en Anexo los mapas para la campaña 2019). Este modelo predictivo fue probado y ajustado para otros sitios del norte y sur de la región pampeana (Moschini et al., 2001; Moschini y Carmona, 1998).

5. RESULTADOS

5.1. Efecto del genotipo y la aplicación de fungicida en los niveles de DON.

No se encontró evidencia significativa de que exista interacción entre los genotipos y los tratamientos (p=0,9789; Tabla 3). Además, no se observaron diferencias significativas en los valores medios de DON en los granos provenientes de lotes tratados con fungicida con respecto a lotes sin tratar (p=0,1079).

Por otra parte, se encontraron diferencias significativas en los valores medios de DON para los distintos genotipos (P<0,0001; Tabla 3).

Tabla 3. Resultados del ANOVA en bloques completamente aleatorizados.

Cuadro de Análisis	de la Var	ianza	(SC tipo	III)	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	608058,92	39	15591,25	41,29	<0,0001
Localidad	550335,19	8	68791,90	182,20	<0,0001
Fungicida	982,72	1	982,72	2,60	0,1079
Genotipo	54487,28	15	3632,49	9,62	<0,0001
Fungicida*Genotipo	2253,72	15	150,25	0,40	0,9789
Error	93637,03	248	377,57		
Total	701695,94	287	- 10.1		

Los materiales Charles, Overture, L6-2019, Montoya y L5-2019 demostraron tener los niveles más altos de DON (> 0,66 ppm; Tabla 4, Figura 7), mientras que L2-2019, Danielle, Jennifer, Traveler y L1-2019 fueron los que presentaron los niveles más bajos (< 0,46 ppm).

La mayoría de los genotipos presentó valores de DON promedio superiores al límite de tolerancia (Tabla 5). En cuanto a las líneas experimentales, están dispersas en todo el rango analizado (Tabla 5), indicando que no presentarían un mejor comportamiento a los genotipos actualmente en el mercado.

Tabla 4. Resultados del test LSD Fisher de comparación de medias.

Variable	N	R²	R² Aj	CV
DON	288	0,86	0,85	33,76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	60,48	23	2,63	71,66	<0,0001
Localidad	55,03	8	6,88	187,47	<0,0001
Genotipo	5,45	15	0,36	9,9	<0,0001
Error	9,69	264	0,04		
Total	70,17	287			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,29928

Error: 0,0367 gl: 135 264

Genotipo	Medias	n	E.E.	
L2	0,3461	18	0,05	A
Danielle	0,3867	18	0,05	A B
Jennifer	0,4028	18	0,05	A B C
Traveler	0,4417	18	0,05	ABCD
L1	0,4606	18	0,05	ABCD
L3	0,5089	18	0,05	BCDE
Aliciana	0,5167	18	0,05	C D E
Fatima	0,5344	18	0,05	D E
L4	0,5667	18	0,05	DEF
Sinfonia	0,6017	18	0,05	E F
Andreia	0,6128	18	0,05	E F
L5	0,6639	18	0,05	F G
Montoya	0,74	18	0,05	G
L6	0,7633	18	0,05	G
Overture	0,7661	18	0,05	G
Charles	0,7756	18	0,05	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

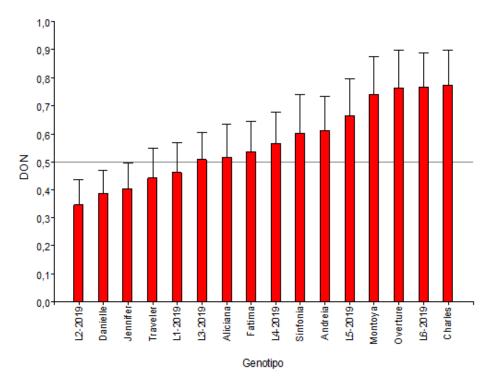


Figura 7. Nivel de DON (ppm) en los distintos genotipos de cebada evaluados.

Tabla 5. Niveles de DON promedio por genotipo, en rojo los genotipos que superan el nivel de tolerancia (> 0,5 ppm).

Genotipo	Valor DON promedio
Charles	0,7756
L6-2019	0,7661
Overture	0,7633
Montoya	0,7400
L5-2019	0,6639
Andreia	0,6128
Sinfonia	0,6017
L4-2019	0,5667
Fatima	0,5344
Aliciana	0,5167
L3-2019	0,5089
L1-2019	0,4606
Traveler	0,4417
Jennifer	0,4028
Danielle	0,3867
L2-2019	0,3461

5.2. Descripción del comportamiento de los niveles de DON en las distintas localidades evaluadas.

De las 16 localidades, en siete de ellas no se detectó DON (Barrow, Balcarce, Bolívar, Chillar, Dorrego, San Agustín y 9 de Julio) en las muestras analizadas. En cambio, en Oliveros, Alberti, Posse, Junín, La Dulce, Rojas, Miramar, Ferré, Bigand y Marcos Juárez, los genotipos de cebada evaluados presentaron niveles variables de esta micotoxina.

Los niveles de DON entre las distintas localidades de la REC evaluadas fueron variables. Si tomamos en cuenta las nueve localidades donde se detectó DON y realizamos un promedio, en cinco de ellas se supera el nivel de tolerancia de > 0,5 ppm (Tabla 6, Figura 8).

Tabla 6. Niveles de DON promedio por localidad, en rojo las localidades que superan el nivel de tolerancia (> 0,5 ppm).

Ambiente	Valor DON promedio
OLIVEROS	1,4969
ALBERTI	0,9047
POSSE	0,7403
JUNIN	0,6878
LA DULCE	0,6363
ROJAS	0,3119
MIRAMAR	0,1547
FERRE	0,1381
BIGAND	0,0413

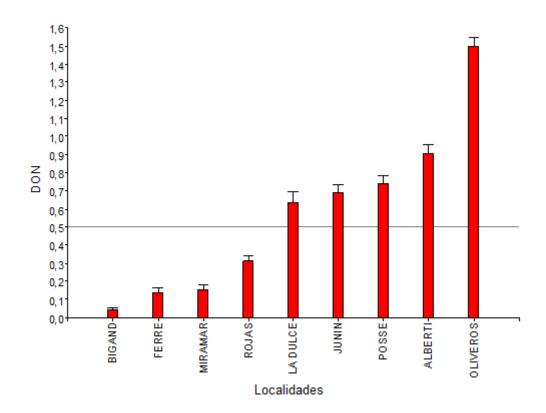


Figura 8. Nivel de DON (ppm) en las distintas localidades.

5.3. Análisis de mapas de Índice de Fusarium

Teniendo en cuenta los mapas de Índice de *Fusarium* elaborados para trigo por el Instituto de Clima y Agua del INTA Castelar para la campaña 2019 (Figuras 9 y 10), se pudo observar que en líneas generales las localidades analizadas de la REC, presentaron un bajo Índice de *Fusarium* < 5 % (región verde) para las distintas fechas de espigazón. Una excepción fue Oliveros que en espigazón tardía llego a valores moderados 5-9 % (Figura 10, región amarilla).

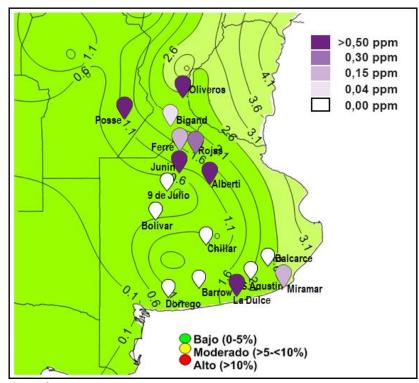


Figura 9. Mapa de Índice de Fusarium (incidencia % x severidad % /100) para espigazón media elaborado por el Instituto de Clima y Agua del INTA Castelar (escala verde, amarillo y rojo). Se indican con puntos blancos las localidades en las que no se detectó DON y con puntos en escala de violeta las localidades donde fue detectado.

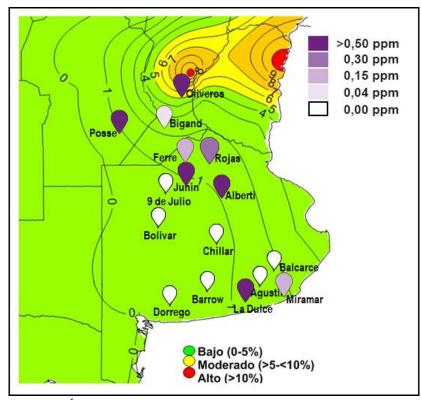


Figura 10. Mapa de Índice de Fusarium (incidencia % x severidad % /100) para espigazón tardía elaborado por el Instituto de Clima y Agua del INTA Castelar (escala verde, amarillo y rojo). Se indican con puntos blancos las localidades en las que no se detectó DON y con puntos en escala de violeta las localidades donde fue detectado.

6. DISCUSIÓN

6.1. Tratamiento

El tratamiento con fungicida no logró disminuir los niveles de DON en los genotipos de cebada evaluados. Esto se debería a que el tratamiento con el fungicida foliar Orquesta Ultra® se realizó en estado de hoja bandera, es decir antes de la emergencia de la espiga. Ese momento de aplicación es bastante anterior al momento de susceptibilidad a la fusariosis de la espiga (antesis) y eso lleva a una falta de efecto por el tratamiento. En la REC se hace la aplicación de un fungicida foliar para ver su efecto sobre enfermedades foliares y no está dirigido específicamente al control de la fusariosis de la espiga.

6.2. Genotipo

Ciertas variedades y líneas presentaron mejor comportamiento en cuanto a los niveles de DON encontrados y se relacionaría con la susceptibilidad del material a la fusariosis. Un aspecto a tener en cuenta en referencia a los materiales comerciales de cebada es que la industria lleva a que se cultiven pocas variedades, dominando unas pocas en la superficie cultivada. Como se puede observar en la Tabla 7 para la campaña 2019-2020 la variedad más utilizada fue Andreia inscripta en el Registro Nacional de Cultivares (RNC) en el año 2011, que comprendió el 65,23% de la superficie sembrada declarada. En segundo lugar, se encontró Scarlett (6,46%), tercero Montoya (4,53%) y cuarto Shakira (4,22%). Lo mismo ocurrió en la campaña 2021-2022 (Tabla 8), donde Andreia siguió siendo por lejos la variedad más utilizada, ocupando un 50,33%, luego Montoya (15,19%) y Overture (10,96%) las cuales aumentaron considerablemente el porcentaje de superficie cultivada en comparación con la campaña 2019-2020.

Tabla 7. Principales variedades sembradas en Argentina en la campaña 2019-2020 (hectáreas totales). Tomado de SISA (2020).

N° Orden	Año registro	Descripción Variedad	Suma de ha total	% Superficie total	% Acumulado
1	2.011	ANDREIA	667.272	65,23%	65,23%
2	1.999	SCARLETT	66.073	6,46%	71,68%
3	2017	MONTOYA	46.332	4,53%	76,21%
4	2.007	SHAKIRA	43.193	4,22%	80,43%
	Otras 71 varieda	ides	200.155	19,57%	100,00%
Total genera	ıl		1.023.025	100,00%	

Tabla 8. Principales variedades sembradas en Argentina en la campaña 2021-2022 (hectáreas totales). Tomado de SISA (2022).

N° Orden	NOMBRE CULTIVAR	Año Registro	TIPO	Superficie (Has)	% Superficie Total	% Acumulado
1	ANDREIA	2011	CERVECERA	688.533	50,33%	50,33%
2	MONTOYA	2017	CERVECERA	207.857	15,19%	65,52%
3	OVERTURE	2016	CERVECERA	149.985	10,96%	76,49%
4	ALHUE	2019	CERVECERA	46.357	3,39%	79,88%
0:	tras 68 variedad	es		275.319	20,12%	100,00%
	Total			1.368.051	100,00%	

Es importante recordar que el objetivo de la industria es que la cebada germine fácilmente y de manera pareja por lo cual resulta clave la uniformidad de los granos. Es tal la exigencia de uniformidad que se incluye a la genética, ya que no se deben mezclar variedades para realizar el malteo, aunque todas tengan muy buena calidad. Incluso, algunas malterías separan para maltear las cebadas de una misma variedad de acuerdo al lugar de origen teniendo en cuenta si éstas proceden por debajo o por arriba de una determinada latitud. Es por esta razón que al momento de elegir un cultivar los productores tienen preferencia por ciertas variedades como Andreia, Montoya u Overture que están en pleno auge. La poca variabilidad genética en los lotes, provoca una alta presión de selección sobre los patógenos, y los materiales se pueden volver susceptibles a *Fusarium* spp. o cualquier otro patógeno al poco tiempo de liberarse al mercado.

En cuanto al nivel de DON, en el caso de Andreia los resultados no fueron positivos ya que la presencia de la micotoxina fue cercana a 0,61 ppm, superior a la tolerancia establecida por la industria (> 0,5 ppm) al igual que Montoya (0,74 ppm) y Overture (0,76 ppm). Si se observa la posición de las líneas de planes de mejoramiento no liberadas al mercado (L1-2019 a L6-2019) en la Tabla 5, se encuentra que se presentan distribuidas uniformemente, algunas con mayores niveles de DON al permitido y otras entre las menores. Todo lo anterior estaría indicando que el mejoramiento del cultivo no está siendo dirigido hacia la búsqueda de resistencia a la fusariosis de la espiga, lo cual coincide con la situación observada a nivel mundial, ya que no existen fuentes de resistencia importantes (Bushnell et al., 2003).

6.3. Localidad

La fusariosis de la espiga es una enfermedad muy dependiente de las condiciones climáticas y en el año en que se realizó la presente evaluación (2019) no se presentaron condiciones muy predisponentes a nivel nacional. A pesar ello, los niveles hallados en seis de las localidades fueron muy superiores al nivel permitido (0,5 ppm) indicando la seriedad de la problemática. Por otra parte, de acuerdo con los resultados observados, los niveles de DON fueron mayores en localidades con mayor Índice de *Fusarium*. Esto se evidenció especialmente con la localidad Oliveros. Una excepción fue Balcarce y San Agustín en donde el Índice fue relativamente alto, aunque no se detectó presencia de DON en las muestras de la REC.

En años como el evaluado, los lotes de grano cosechado de cebada provenientes de las zonas con menor riesgo suelen mezclarse con los de zonas afectadas por la fusariosis para bajar los niveles de DON. Pero en años de epidemia, que suelen presentarse dos o tres veces por década, la situación es muy complicada y las empresas tienen que elevar los niveles de tolerancia y recurrir a otras alternativas (limpieza de granos afectados, *blend*, etc.) para lograr comercializar la malta o la cerveza.

Los distintos mapas elaborados por el Instituto de Clima y Agua del INTA Castelar corresponden a distintas fechas de espigazón, de acuerdo a la región y fecha de siembra (espigazón temprana, media y tardía). En el caso del cultivo de cebada, el desarrollo floral es previo al del trigo, pero como la flor se abre relativamente en un estadío posterior, los momentos de susceptibilidad de ambos cultivos se solapan (Miralles et al., 2011).

Dado que el medio ambiente influye en cuándo y cómo *Fusarium* spp. infectan el cultivo, es necesario monitorear los patrones climáticos cada año para comprender cómo el cambio climático está afectando al patógeno. El aumento de los niveles de dióxido de carbono, las temperaturas más altas y la alteración de las precipitaciones modifican el crecimiento y el desarrollo de las plantas, lo que permite la producción y supervivencia del patógeno en las plantas susceptibles, ya que estas poblaciones de patógenos han demostrado adaptarse al aumento de las temperaturas (Pangga et al. 2013).

7. CONCLUSIONES

Ciertos genotipos como Danielle, Jennifer y Traveler podrían ser tenidos cuenta a la hora de elegir variedades de mejor comportamiento frente a la enfermedad dados la menor presencia de la micotoxina encontrada.

Sería interesante estudiar el efecto en los niveles de la micotoxina de la aplicación de fungicidas dirigidas al control específico de la fusariosis de la espiga.

Dada la importancia de la enfermedad y la íntima relación de su intensidad con las condiciones climáticas favorables, se deseable contar con modelos matemáticos específicos para cebada.

En términos de desafíos futuros, los avances en biología molecular han mejorado significativamente la comprensión de *Fusarium* en cuanto a genética y patogenicidad, y las mejoras en la tecnología analítica han aumentado la capacidad de detectar e identificar una amplia gama de micotoxinas. Las industrias de la malta y la cerveza sin duda se verán influenciadas por estos factores, y los desafíos adicionales surgirán de los probables cambios en el entorno regulatorio, de la búsqueda de fuentes de resistencia genética y, en cierta medida, de los desarrollos dentro de la estructura de las propias industrias de la malta y la cerveza.

8. BIBLIOGRAFÍA

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). 2016. Resolução – RDC no. 7, 18 de fevereiro de 2011 Limite máximos tolerados para micotoxinas em alimentos.

Bennett J., Klich M. 2003. Mycotoxins. Clin. Microbiol. Rev., 16, 497-516.

Carmona M., Sautua F., Reis E.M. 2012. Sistemas de ayuda a la decisión de control químico en cultivos de trigo y cebada, pág. 155-166.

Champbeil A., Doré T., Fourbet J. 2004. *Fusarium* head blight: epidemiological origin of the effects of culturals practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by *Fusarium* in wheat grains. Plant Sci. 166, 1389-1415.

Charmley E., Trenholm H., Thompson B., Vudathala D., Nicholson J., Prelusky D., Charmley, L.L. 1993. Influence of level of deoxynivalenol in the diet of dairy cows on feed intake, milk production, and its composition. Journal of Dairy Science 76: 3580-3587

Cortese F. 2019. Disponible en: https://www.infosudoeste.com.ar/notas/8154_el-mercado-de-cebada-con-expectativas.

Desjardins A. 2006. *Fusarium* mycotoxins: chemistry, genetics and biology. APS Press, EEUU, 260 pág.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. 2015. InfoStat, Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

FDA (Food and Drug Administration). 2010. Guidance for industry and FDA: Advisory Levels for Deoxynivalenol (DON) in finished wheat products for human consumption and grains and grain by-products used for animal feed. Disponible en: http://www.fda.gov/Food/ GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatory Information/ChemicalCont aminantsMetalsNatural ToxinsPesticides/ucm120184.htm.

Gabe L., Schwarz P., Emmer A. 2008. Beer gushing. En: Beer: a quality perspective. Bamforth C. (ed). Academic Press, Burlington, EEUU, pág. 185-211.

Hippeli S., Elstner E. 2002. Are hydrophobins and/or non-specific lipid transfer proteins responsible for gushing in beer? New hypotheses on the chemical nature of gushing inducing factors. Z. Naturforsch. C., 57, 1-8.

Kostelanska M., Hajslova J., Zachariasova M., Malachova A., Kalachova K., Poustka J.,

Fiala J., Scott P.M., Berthiller F., Krska R. 2009. Occurrence of deoxynivalenol and its major conjugate, deoxynivalenol-3-glucoside, in beer and some brewing intermediates. J. Agric. Food Chem. 57, 3187-3194.

Leonard K., Bushnell W. 2003. *Fusarium* head blight of wheat and barley. APS Press, EEUU, 512 pág.

LUO, XY (1991). Contaminación de cereales por toxinas de *Fusarium* en China. JSM Micotoxinas, 1991 (33), 11-15

McCormick S., Stanley A., Stover N., Alexander N. 2011. Trichothecenes: from simple to complex mycotoxins. Toxins 3, 802-814.

Middlekauff J. 1995. Sanitation and pest control; part B; microbiological aspects. En: Handbook of brewing. Hardwick W. (ed). Marcel Dekker, New York, EEUU, pág. 480-489.

Miller J. 1990. Contamination of food by *Fusarium* toxins: studies from Austria-Asia. Proc. Jap. Assoc. Mycot. 32, 17-24.

Miralles D., Arisnabarreta S., Alzueta I. 2011. Desarrollo ontogénico y generación del rendimiento. En: Cebada cervecera. Miralles D., Benech-Arnold R., Abeledo L. (eds.). Editorial Facultad de Agronomía UBA, Buenos Aires, Argentina.

Miralles D., Gonzalez F., Abeledo L., Serrago R., Alzueta I., García G., De San Caledonio R., Lo Valvo P. 2014. Manual de trigo y cebada para el cono sur. Procesos fisiológicos y bases de manejo. Orientación Gráfica Editora, Buenos Aires, Argentina

Moschini R., Martínez M., Sepulcri M. 2013. Modeling and forecasting systems for *Fusarium* head blight and deoxynivalenol content in wheat in Argentina. En: *Fusarium* head blight in Latin America, Springer, Alemania, pág. 205-227.

Moschini R., Carmona M. 1998. Fusariosis en trigo. Nuevo enfoque para su control para el área de Balcarce. Revista ALEA Informa 1,16-20.

Moschini R., Fortugno C. 1996. Predicting wheat head blight incidence using models based on meteorological factors in Pergamino, Argentina. Eur. J. Plant Pathol. 102, 211-218.

Moschini R., Pioli R., Carmona M., Sacchi O. 2001. Empirical predictions of wheat head blight in the Northern Argentinean pampas region. Crop Sci. 41, 1541-1545.

Moschini R., Bischoff S., Martínez M. 2008. Caso de estudio: Fusariosis de la espiga de trigo. Revista Horizonte A. Magazine de las Ciencias Agrarias. Investigación. Variabilidad climática y ocurrencia de enfermedades 21, 10-15.

Moschini R., de Galich M., Annone J., Polidoro O. 2002. Enfoque Fundamental-Empírico para estimar la evolución del Indice de *Fusarium* en trigo. Revista RIA 31, 39-53.

Mycotoxins Info. 2010. Regulations for Food. Disponible en: http://www.mycotoxins.info/myco_info/consum_regu.html#eu.

Oliveira P., Waters D., Arendt E. 2013. The impact of *Fusarium culmorum* infection on the protein fractions of raw barley and malted grains. Appl. Microbiol. Biotechnol. 97, 2053-2065.

Palazzini J., Fumero V., Yerkovich N., Barros G., Cuniberti M. 2016 Correlation between *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol during the 2012/13 wheat *Fusarium* head blight outbreak in Argentina. Cereal Res. Commun. 43, 627-637.

Pangga I., Hanan J., Chakraborty S. 2013. Climate change impacts on plant canopy architecture: Implications for pest and pathogen management. Eur. J. Plant Pathol. 135, 595-610.

Pritsch C., Muehlbauer G., Bushnell W., Sommers D., Vance C. 2000. Fungal development and induction of defense response genes during early infection of wheat spikes by *Fusarium graminearum*. Mol. Plant Microbe Interac. 13, 159-169.

Red Nacional de Cebada Cervecera – REC Campaña 2019. Disponible en: https://inta.gob.ar/documentos/red-nacional-de-cebada-cervecera-%E2%80%93-rec-campana-2019-0

Sarlin T., Kivioja T., Kalkkinen N., Linder M., Nakari-Setälä T. 2012. Identification and characterization of gushing-active hydrophobins from *Fusarium graminearum* and related species. J. Basic Microbiol. 52, 184-194.

Schwarz P., Horsley R., Steffenson B., Salas B., Barr J. 2006. Quality risks associated with the utilization of *Fusarium* head blight infected malting barley. J. Am. Soc. Brew. Chem. 64, 1–7

Schwarz P., Jones B., Steffenson B. 2002. Enzymes associated with *Fusarium* infection of barley. J. Am. Soc. Brew. Chem. 60,130-134.

SISA. 2020. Sistema de Información Simplificado Agrícola. Cebada 2019-2020.

Disponible en: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/informe_cebada2020.pdf

SISA. 2022. Sistema de Información Simplificado Agrícola. Cebada 2021-2022. Disponible

en: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/inase_if_sisa_cebada_2021_2022.pdf

Steffenson B. 2003. *Fusarium* head blight of barley: impact, epidemics, management, and strategies for identifying and utilizing genetic resistance. En: *Fusarium* head blight of wheat and barley, Eds. Leonard K. y Bushnell W., APS Press, EEUU, pág. 241-295.

Trail, F. 2009. For blighted waves of grain: *Fusarium graminearum* in the postgenomics era. Plant Physiology 149, 103-110

Varga E., Malachova A., Schwartz H., Krska R., Berthiller F. 2013. Survey of deoxynivalenol and its conjugates deoxynivalenol-3-glucosideand 3-acetyl-deoxynivalenol in 374 beer samples. Food Addit. Contam. Part A, 30, 1-10.

Virkajärvi V., Sarlin T., Laitila A. 2017. *Fusarium* profiling and barley malt gushing propensity. J. Am. Soc. Brew. Chem. 75: 181-192.

Zapf M., Theisen S., Rohde S., Rabenstein F., Vogel R., Niessen L. 2007. Characterization of AfpA, an alkaline foam protein from cultures of *Fusarium culmorum* and its identification in infected malt. J. Appl. Microbiol. 103, 36-52.

9. ANEXO

Norma de calidad para la comercialización de cebada cervecera. Tomado de la Bolsa de Comercio de Rosario (https://www.cac.bcr.com.ar/sites/default/files/2019-01/norma_v_-res_27-2013_-_anexo_a_-_cebada_cervecera.pdf).



Norma de calidad para la comercialización de cebada cervecera

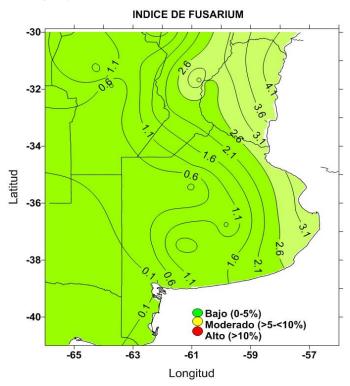


NORMA V - ANEXO A - Resolución SENASA 27/2013

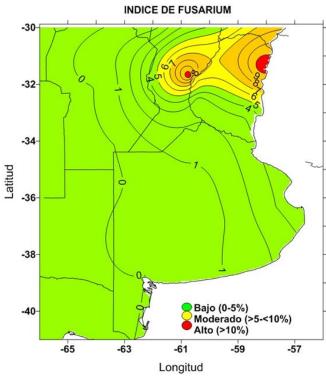
RUBROS	BAS ES %	TOLERAN CIADE RECIBO %	BONIFICACION ES	REBAJ AS
Capacidad Germinativa (mínimo)	98	95	- - - -	Para valores inferiores al 98% y hasta el 95% a razón del 0,5% por cada por ciento.
Materias Extrañas (máximo)	0,5	1,0	- - - -	Para valores superiores al 0,5% y hasta el 1% a razón del 1,0% por cada por ciento o fracción proporcional.
Granos Dañados (máximo)	0,5	1,5	Para valores inferiores al 0,5% a razón del 1%por cada por ciento o fracción proporcional.	Para valores superiores al 0,5% y hasta el 1,5% a razón del 0,5% por cada por ciento o fracción proporcional.
Granos quebrados y/o pelados (máximo)	1,5	4,0	Para valores inferiores al 1,5% a razón del 1%por cada por ciento o fracción proporcional.	Para valores superiores al 1,5% y hasta el 4% a razón del 0,5% por cada por ciento o fracción proporcional.
Carbón (máximo) Granos Picados (máximo)		0,2	- - - -	Para valores superiores al 0,2% a razón del 1% por cada porciento o fracción proporcional.
		0,5	- - - -	Para valores superiores al 0,5% a razón del 1% por cada porciento o fracción proporcional.
Bajo Zaranda de 2,2 mm (máximo)		4,0	Para valores inferiores al 4% a razón del 1%por cada por ciento o fracción proporcional.	Para valores superiores al 4% a razón del 1% por cada porciento o fracción proporcional.
Calibre sobre zaranda2,5 mm (mínimo)	85	80	- - -	Para valores inferiores al 85% y hasta el 80% a razón del 0,5%por cada por ciento.
Proteína Mínima S.S.S.		9,5	- - - -	- - - -
Proteína Máxima S.S.S.		13,0	- - - -	- - - -
Hume dad (máxi mo)	12,0	12,5	Para valores inferiores al 12,0% a razón del 1,2%por cada por ciento o fracción proporcional.	Para mercadería que exceda el 12,5% se aplicará unamerma conforme a formula: (Hi - Hf) x 100 Merma (%) = -100 - Hf Hi: Humedad inicial Hf: Humedad Final (12,0%) Merma por manipuleo, 0,20%

Libre de insectos y arácnidos vivos

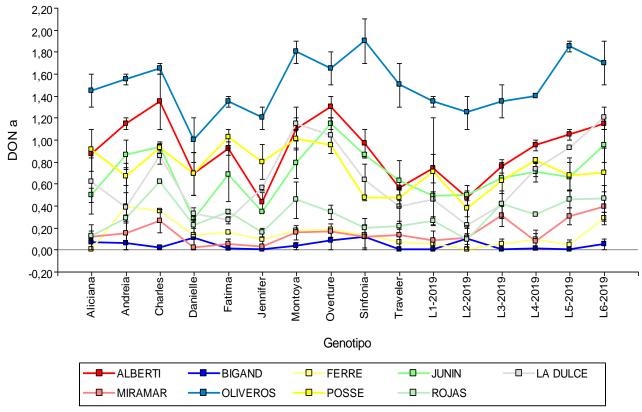
Figuras originales de Índice de *Fusarium* (incidencia % x severidad % /100) para espigazón media y tardía elaboradas por el Instituto de Clima y Agua del INTA Castelar (escala verde, amarillo y rojo).



Índice de Fusarium para trigos con fecha de espigazón media. Comienzo de antesis aproximado: Norte (30/09 al 10/10), centro (12/ al 18/10) y sur (1 al 7/11).



Índice de Fusarium para trigos con fecha de espigazón tardía. Comienzo de antesis aproximado: Norte (8 al 12/10), centro (16/ al 22/10) y sur (12/11).



Nivel promedio de DON (ppm) por genotipo y localidad

Planilla con los niveles de DON de aquellas localidades que dieron positivas, provistas por el grupo de Mejoramiento y Calidad Vegetal del INTA Bordenave.

Localidad	Genotipo	Tratamiento	DON(ppm)	Genotipo	Tratamiento	DON (ppm)
Alberti	Aliciana	s/f	0,84	Aliciana	c/f	0,90
Alberti	Andreia	s/f	1,10	Andreia	c/f	1,20
Alberti	Charles	s/f	1,10	Charles	c/f	1,60
Alberti	Danielle	s/f	0,50	Danielle	c/f	0,89
Alberti	Fatima	s/f	0,98	Fatima	c/f	0,86
Alberti	Jennifer	s/f	0,35	Jennifer	c/f	0,52
Alberti	Montoya	s/f	1,00	Montoya	c/f	1,20
Alberti	Overture	s/f	1,40	Overture	c/f	1,20
Alberti	Sinfonia	s/f	0,84	Sinfonia	c/f	1,10
Alberti	Traveler	s/f	0,55	Traveler	c/f	0,58
Alberti	L1-2019	s/f	0,61	L1-2019	c/f	0,87
Alberti	L2-2019	s/f	0,54	L2-2019	c/f	0,40
Alberti	L3-2019	s/f	0,70	L3-2019	c/f	0,82
Alberti	L4-2019	s/f	0,90	L4-2019	c/f	1,00
Alberti	L5-2019	s/f	1,10	L5-2019	c/f	1,00
Alberti	L6-2019	s/f	1,10	L6-2019	c/f	1,02
Bigand	Aliciana	s/f	0,13	Aliciana	c/f	0
Bigand	Andreia	s/f	0,05	Andreia	c/f	0,07
Bigand	Charles	s/f	0,04	Charles	c/f	0

Bigand	Danielle	s/f	0,20	Danielle	c/f	0,02
Bigand	Fatima	s/f	0,02	Fatima	c/f	0
Bigand	Jennifer	s/f	0	Jennifer	c/f	0
Bigand	Montoya	s/f	0,07	Montoya	c/f	0
Bigand	Overture	s/f	0,17	Overture	c/f	0
Bigand	Sinfonia	s/f	0,23	Sinfonia	c/f	0
Bigand	Traveler	s/f	0	Traveler	c/f	0
Bigand	L1-2019	s/f	0	L1-2019	c/f	0
Bigand	L2-2019	s/f	0,20	L2-2019	c/f	0
Bigand	L3-2019	s/f	0	L3-2019	c/f	0
Bigand	L4-2019	s/f	0,02	L4-2019	c/f	0
Bigand	L5-2019	s/f	0	L5-2019	c/f	0
Bigand	L6-2019	s/f	0,10	L6-2019	c/f	0
Ferre	Aliciana	s/f	0	Aliciana	c/f	0
Ferre	Andreia	s/f	0	Andreia	c/f	0,79
Ferre	Charles	s/f	0,34	Charles	c/f	0,37
Ferre	Danielle	s/f	0	Danielle	c/f	0,26
Ferre	Fatima	s/f	0,15	Fatima	c/f	0,16
Ferre	Jennifer	s/f	0,16	Jennifer	c/f	0,03
Ferre	Montoya	s/f	0,17	Montoya	c/f	0,18
Ferre	Overture	s/f	0,24	Overture	c/f	0,12
Ferre	Sinfonia	s/f	0,14	Sinfonia	c/f	0,13
Ferre	Traveler	s/f	0	Traveler	c/f	0,14
Ferre	L1-2019	s/f	0	L1-2019	c/f	0,10
Ferre	L2-2019	s/f	0	L2-2019	c/f	0
Ferre	L3-2019	s/f	0	L3-2019	c/f	0,10
Ferre	L4-2019	s/f	0	L4-2019	c/f	0,18
Ferre	L5-2019	s/f	0	L5-2019	c/f	0,09
Ferre	L6-2019	s/f	0,23	L6-2019	c/f	0,34
Junín	Aliciana	s/f	0,43	Aliciana	c/f	0,56
Junín	Andreia	s/f	1,00	Andreia	c/f	0,73
Junín	Charles	s/f	0,90	Charles	c/f	0,97
Junín	Danielle	s/f	0,33	Danielle	c/f	0,23
Junín	Fatima	s/f	0,44	Fatima	c/f	0,93
Junín	Jennifer	s/f	0,35	Jennifer	c/f	0,34
Junín	Montoya	s/f	0,65	Montoya	c/f	0,93
Junín	Overture	s/f	1,10	Overture	c/f	1,20
Junín	Sinfonia	s/f	0,89	Sinfonia	c/f	0,84
Junín	Traveler	s/f	0,45	Traveler	c/f	0,81
Junín	L1-2019	s/f	0,53	L1-2019	c/f	0,45
Junín	L2-2019	s/f	0,59	L2-2019	c/f	0,41
Junín	L3-2019	s/f	0,51	L3-2019	c/f	0,80
Junín	L4-2019	s/f	0,62	L4-2019	c/f	0,80
Junín	L5-2019	s/f	0,48	L5-2019	c/f	0,84

Junín	L6-2019	s/f	0,80	L6-2019	c/f	1,10
J. Posse	Aliciana	s/f	1,10	Aliciana	c/f	0,72
J. Posse	Andreia	s/f	0,75	Andreia	c/f	0,59
J. Posse	Charles	s/f	0,98	Charles	c/f	0,88
J. Posse	Danielle	s/f	0,89	Danielle	c/f	0,50
J. Posse	Fatima	s/f	1,10	Fatima	c/f	0,95
J. Posse	Jennifer	s/f	0,96	Jennifer	c/f	0,64
J. Posse	Montoya	s/f	0,91	Montoya	c/f	1,10
J. Posse	Overture	s/f	0,97	Overture	c/f	0,94
J. Posse	Sinfonia	s/f	0,50	Sinfonia	c/f	0,45
J. Posse	Traveler	s/f	0,56	Traveler	c/f	0,39
J. Posse	L1-2019	s/f	1,20	L1-2019	c/f	0,22
J. Posse	L2-2019	s/f	0,30	L2-2019	c/f	0,45
J. Posse	L3-2019	s/f	0,62	L3-2019	c/f	0,64
J. Posse	L4-2019	s/f	0,79	L4-2019	c/f	0,84
J. Posse	L5-2019	s/f	0,80	L5-2019	c/f	0,55
J. Posse	L6-2019	s/f	0,47	L6-2019	c/f	0,93
La Dulce	Aliciana	s/f	0,33	Aliciana	c/f	0,91
La Dulce	Andreia	s/f	0,25	Andreia	c/f	0,52
La Dulce	Charles	s/f	0,93	Charles	c/f	0,78
La Dulce	Danielle	s/f	0,28	Danielle	c/f	0,38
La Dulce	Fatima	s/f	0,30	Fatima	c/f	0,24
La Dulce	Jennifer	s/f	0,58	Jennifer	c/f	0,54
La Dulce	Montoya	s/f	1,30	Montoya	c/f	0,99
La Dulce	Overture	s/f	0,88	Overture	c/f	1,20
La Dulce	Sinfonia	s/f	0,49	Sinfonia	c/f	0,78
La Dulce	Traveler	s/f	0,22	Traveler	c/f	0,57
La Dulce	L1-2019	s/f	0,46	L1-2019	c/f	0,45
La Dulce	L2-2019	s/f	0,39	L2-2019	c/f	0,05
La Dulce	L3-2019	s/f	0,42	L3-2019	c/f	0,40
La Dulce	L4-2019	s/f	0,67	L4-2019	c/f	0,79
La Dulce	L5-2019	s/f	0,92	L5-2019	c/f	0,94
La Dulce	L6-2019	s/f	1,30	L6-2019	c/f	1,10
Miramar	Aliciana	s/f	0,23	Aliciana	c/f	0
Miramar	Andreia	s/f	0	Andreia	c/f	0,30
Miramar	Charles	s/f	0,37	Charles	c/f	0,16
Miramar	Danielle	s/f	0	Danielle	c/f	0,03
Miramar	Fatima	s/f	0,10	Fatima	c/f	0
Miramar	Jennifer	s/f	0,03	Jennifer	c/f	0,03
Miramar	Montoya	s/f	0,22	Montoya	c/f	0,09
Miramar	Overture	s/f	0,17	Overture	c/f	0,16
Miramar	Sinfonia	s/f	0,22	Sinfonia	c/f	0,02
Miramar	Traveler	s/f	0	Traveler	c/f	0,26
Miramar	L1-2019	s/f	0	L1-2019	c/f	0,17

Miramar	L2-2019	s/f	0	L2-2019	c/f	0,22
Miramar	L3-2019	s/f	0,41	L3-2019	c/f	0,21
Miramar	L4-2019	s/f	0	L4-2019	c/f	0,15
Miramar	L5-2019	s/f	0,38	L5-2019	c/f	0,23
Miramar	L6-2019	s/f	0,53	L6-2019	c/f	0,26
Oliveros	Aliciana	s/f	1,60	Aliciana	c/f	1,30
Oliveros	Andreia	s/f	1,60	Andreia	c/f	1,50
Oliveros	Charles	s/f	1,60	Charles	c/f	1,70
Oliveros	Danielle	s/f	0,80	Danielle	c/f	1,20
Oliveros	Fatima	s/f	1,30	Fatima	c/f	1,40
Oliveros	Jennifer	s/f	1,10	Jennifer	c/f	1,30
Oliveros	Montoya	s/f	1,90	Montoya	c/f	1,70
Oliveros	Overture	s/f	1,50	Overture	c/f	1,80
Oliveros	Sinfonia	s/f	1,70	Sinfonia	c/f	2,10
Oliveros	Traveler	s/f	1,30	Traveler	c/f	1,70
Oliveros	L1-2019	s/f	1,30	L1-2019	c/f	1,40
Oliveros	L2-2019	s/f	1,10	L2-2019	c/f	1,40
Oliveros	L3-2019	s/f	1,20	L3-2019	c/f	1,50
Oliveros	L4-2019	s/f	1,40	L4-2019	c/f	1,40
Oliveros	L5-2019	s/f	1,80	L5-2019	c/f	1,90
Oliveros	L6-2019	s/f	1,50	L6-2019	c/f	1,90
Rojas	Aliciana	s/f	0,08	Aliciana	c/f	0,17
Rojas	Andreia	s/f	0,32	Andreia	c/f	0,26
Rojas	Charles	s/f	0,61	Charles	c/f	0,63
Rojas	Danielle	s/f	0,31	Danielle	c/f	0,14
Rojas	Fatima	s/f	0,36	Fatima	c/f	0,33
Rojas	Jennifer	s/f	0,20	Jennifer	c/f	0,12
Rojas	Montoya	s/f	0,29	Montoya	c/f	0,62
Rojas	Overture	s/f	0,28	Overture	c/f	0,41
Rojas	Sinfonia	s/f	0,11	Sinfonia	c/f	0,29
Rojas	Traveler	s/f	0,23	Traveler	c/f	0,19
Rojas	L1-2019	s/f	0,30	L1-2019	c/f	0,23
Rojas	L2-2019	s/f	0,15	L2-2019	c/f	0,03
Rojas	L3-2019	s/f	0,29	L3-2019	c/f	0,54
Rojas	L4-2019	s/f	0,31	L4-2019	c/f	0,33
Rojas	L5-2019	s/f	0,54	L5-2019	c/f	0,38
Rojas	L6-2019	s/f	0,34	L6-2019	c/f	0,59