

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBANELL E., BARTOLOMÉ J., CRISTOBAL I. Y CASSINELLO J. (2011) Predicción de la composición botánica de la dieta de herbívoros silvestres mediante NIRS. En: López-Carrasco C. *et al.* (Eds.) *Pastos, paisajes culturales entre tradición y nuevos paradigmas del siglo XXI*, pp 439-444. Toledo, España: SEEP.
- ALONSO E., IGARZABAL A., OREGUI L.M. Y MANDALUNIZ N. (2005) Estimación del contenido de nitrógeno en heces de rumiantes mediante espectroscopía en el infrarrojo cercano (NIRS). En: De La Roza, B. *et al.* (Eds). *Producciones agroganaderas: Gestión eficiente y conservación del medio natural*. Vol. II, pp 817-824. Gijón, España: SERIDA.
- DIXON R. Y COATES D. (2009) Review: Near infrared spectroscopy of faeces to evaluate the nutrition and physiology of herbivores. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **17**, 1-31.
- GAIDET M.N. (2002) *Etude de la dynamique des populations d'ongulés en zone tropicale: contribution du modèle d'une population exploitée d'impalas (Aepyceros melampus)*. Tesis, Université Claude Bernard, Lyon, Francia.
- GLASSER T., LANDAU S., UNGAR E.D., PEREVOLOTSKY A., DVASH L., MUKLADA H., KABABYA D. Y WALKER J.W. (2008) A fecal near-infrared reflectance spectroscopy-aided methodology to determine goat dietary composition in a Mediterranean shrubland. *Journal of Animal Science*, **86**, 1345-1356.
- GREYLING M.D. (2004) *Sex and age related distinctions in the feeding ecology of the African elephant, Loxodonta Africana*. Tesis, University Witwatersrand, Johannesburg, Sudáfrica.
- KAMLER J., HOMOLKA M. Y KRACMAR S. (2003) Nitrogen characteristics in ungulate faeces: Effect of time of exposure and storage. *Folia Zoologica*, **52**, 31-35.
- KAMLER J., HOMOLKA M. Y CIZMAR D. (2004) Suitability of NIRS analysis for estimating diet quality of free-living red deer, *Cervus elaphus*, and roe deer, *Capreolus capreolus*. *Wildlife Biology*, **10**, 235.
- RAYMOND W.F. (1948) Evaluation of herbage for grazing. *Nature*, **161**, 937-945.
- RIVERO-MARCOTEGUI A., OLIVERA-OLMEDO J.E., VALVERDE-VISUS F.S., PALACIOS-SARRASQUETA M., GRIJALBA-UCHE A. Y GARCÍA-MERLO S. (1998) Water, fat, nitrogen and sugar content in faeces: reference intervals in children. *Clinical Chemistry*, **44**, 1540.
- SCHNEIDER B.H. (1935) The subdivision of the metabolic nitrogen on the faeces of rat, swine and man. *Journal of Biological Chemistry*, **109**, 249-278.
- SHOWERS S.E., TOLLESON D.R., STUTH J.W., KROLL J.C. Y KOERTH B. (2006) Predicting diet quality of white-tailed deer via NIRS fecal profiling. *Rangeland Ecology and Management*, **59**, 300-307.
- STUTH J.W., FREER M., DOVE H. Y LYONS R.K. (1999) Nutritional management of free-ranging livestock. En: Hans-Joachim G. Jung & George C. Fahey Jr. (Eds). *Proceedings Vth International Symposium on the Nutrition of Herbivores*, pp 696-751. Savoy, USA, American Society of Animal Sciences.
- WALKER J.W., SCOTT D., McCOY K., LAUNCHBAUGH L., FRAKER M.J. Y POWELL J. (2002) Calibrating fecal NIRS equations for predicting botanical composition of diets. *Journal of Range Management*, **55**, 374-382
- WILLIAMS P.C. Y SOBERING D.C. (1996) How do we do it: a brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations. En: Davis A.M.C. y Williams, P.C. (Eds.) *Near infrared spectroscopy: the future waves*, pp 185-188. Chichester, U.K.: NIR Publications.

Especies toxigénicas del género *Fusarium* presentes en precosecha de maíz forrajero para ensilado en Galicia

Toxigenic *Fusarium* species in pre-harvest silage maize in Galicia (NW Spain)

M.J. SAINZ¹ / O. AGUÍN² / M.J. BANDE^{1,3} / C. PINTOS² / J.P. MANSILLA²

¹Dpto. Producción Vegetal, Universidad de Santiago de Compostela, Campus Universitario s/n 27002 Lugo. mj.sainz@usc.es

²Estación Fitopatológica do Areiro, Subida a la Robleada s/n, 36153 Pontevedra olga.aguin@depo.es, cristina.pintos@depo.es, pedro.mansilla@depo.es

³Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo, Instituto Galego de Calidade Alimentaria (INGACAL), Apartado 10, 15080 A Coruña. maria.bande@ciam.es

Resumen: En el cultivo de maíz forrajero, todas las partes de la planta pueden verse afectadas por especies de *Fusarium*, que, además de disminuir el rendimiento, pueden producir micotoxinas que persisten en el forraje ensilado y que son perjudiciales para la salud animal. En este trabajo, se identificaron, mediante métodos morfológicos y moleculares, las especies de *Fusarium* presentes en el tallo de híbridos de maíz forrajero cultivados en la provincia de A Coruña. En el momento de corte para ensilado, se detectó una o varias especies de *Fusarium* toxigénicas en todos los híbridos. *F.graminearum*, que produce deoxinivalenol y zearalenona, y un *Fusarium* sp. se encontraron en el 92% y 84% de las muestras, respectivamente.

Palabras clave: *Fusarium graminearum*, híbridos maíz, micotoxinas, tallo maíz, *Zea mays*.

Abstract: In forage maize, all parts of the plant may be affected by *Fusarium* species, which, besides reducing crop yield, can produce mycotoxins that persist in silage and are detrimental to animal health. In this study, we identified, by morphological and molecular methods, the *Fusarium* species present in the stem of forage maize hybrids grown in the province of A Coruña (NW Spain). At time of cutting for silage, one or more toxigenic *Fusarium* species were detected in all hybrids. *Fusarium graminearum*, which produces deoxynivalenol and zearalenone, and a *Fusarium* sp. were found in 92% and 84% of the samples, respectively.

Key words: *Fusarium graminearum*, maize hybrids, mycotoxins, maize stems, *Zea mays*.

INTRODUCCIÓN

El ensilado de maíz forrajero se ha convertido en un recurso fundamental para la alimentación del ganado vacuno, especialmente el de leche, en Galicia. En 2009, se cultivaron 62 426 ha (37 214 ha en A Coruña y 19 580 ha en Lugo), casi en su totalidad en secano, que produjeron 2 528 334 t en verde (1 618 065 t en A Coruña y 683 342 t en Lugo) (Xunta de Galicia, 2011), lo que representa un 63,7 % de la superficie total cultivada en España y un 57,9% de la producción (MARM, 2010).

Distintas especies del género *Fusarium* son patógenos habituales en el cultivo de maíz, ocasionando menores rendimientos y también pérdidas de calidad del grano debido a que muchos de esos patógenos producen micotoxinas (Wu, 2007). El consumo por el ganado de piensos contaminados por micotoxinas puede tener como consecuencia una menor ingestión del alimento, menores ganancias de peso, mayor incidencia de enfermedades y disminución de la capacidad reproductiva (Binder *et al.*, 2007). Por ello, el conocimiento de las especies de *Fusarium* que pueden afectar al cultivo de maíz

forrajero en cada zona geográfica es importante para predecir los riesgos de contaminación del forraje, fresco o ensilado, por micotoxinas (Dorn *et al.*, 2009). Los grupos de toxinas producidas por diferentes especies de *Fusarium* que se encuentran en maíz son principalmente tricotecenos (T-2 y deoxinivalenol), zearalenona y fumonisinas (Munkvold, 2003). En menor proporción se han detectado moniliformina, beauvericina, enniatinas y fusaproliferina (Jestoi, 2008).

El estudio de la ocurrencia de hongos toxigénicos del género *Fusarium* se ha centrado en los granos del maíz, en los que pueden causar podredumbre *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. chlamyosporum*, *F. semitectum*, *F. equiseti*, *F. acuminatum*, y con menos frecuencia *F. heterosporum*, *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum* y *F. poae* (Logrieco *et al.*, 2002; Visentin *et al.*, 2010). Todos ellos pueden colonizar también el tallo, causando la muerte prematura de la planta.

En Galicia, Muñoz *et al.* (1990) identificaron a *F. moniliforme* y *F. poae*, seguidas de *F. graminearum* y *F. sambucinum*, como las especies del género más frecuentes en granos producidos en cultivos de maíz de A Coruña y Pontevedra, demostrando además la presencia de zearalenona y deoxinivalenol en un número significativo de muestras. Sin embargo, Butrón *et al.* (2006), en 10 híbridos de maíz cultivados en Pontevedra, encontraron que la especie más frecuente en los granos era *F. verticillioides* y, en menor proporción, *F. proliferatum*, acompañadas de una alta incidencia de fumonisinas, toxinas carcinogénicas que ambas especies producen (Logrieco *et al.*, 2003).

Hojas y tallos del cultivo del maíz han recibido menos atención, a pesar de que algunos estudios indican que están más infectadas por *Fusarium* spp. que los granos (Di Menna *et al.*, 1997). Este hecho es relevante respecto a la posible toxicidad del ensilado de maíz forrajero, ya que, tanto los tricotecenos como la zearalenona y las fumonisinas persisten en el forraje ensilado aunque los propios hongos de *Fusarium* no sobrevivan al proceso de ensilaje (Mansfield y Kuldau, 2007). El objetivo de este trabajo fue determinar cualitativamente las especies de *Fusarium* productoras potenciales de micotoxinas que afectan a plantas (hojas y tallos) de híbridos de maíz forrajero en Galicia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un ensayo en una finca de 0,3 ha de una explotación de vacuno de leche situada en Mazaricos (A Coruña, 42°56'42,0"N, 8°57'40,3"W), donde en años anteriores se venía observando que las hojas del cultivo de maíz forrajero para ensilar presentaban manchas que cubrían gran parte de la superficie foliar, sugiriendo la presencia de hongos fitopatógenos. Se diseñó un experimento en bloques al azar con tres repeticiones para evaluar la incidencia de enfermedades fúngicas en 25 variedades de híbridos de maíz forrajero de ciclo corto.

En la primavera de 2011, tras el laboreo, se aplicaron 150 kg N/ha, 175 kg P₂O₅/ha y 250 kg K₂O/ha, que se incorporaron con una labor. Para prevenir gusanos grises y blancos, se hizo un tratamiento con clorpirifos (5 %) y, para el control de vegetación

espontánea, se aplicó un herbicida a base de acetocloro (45 %) y terbutilazina (21,5 %). El 18 de mayo de 2011, en cada bloque, se sembraron tres líneas de 4 m de longitud de cada variedad. La distancia entre dos líneas consecutivas fue de 60 cm y la distancia entre semillas en la línea de 18,5 cm, para obtener una densidad de plantación de 90 000 plantas/ha.

Según los datos climatológicos proporcionados por la estación de Fontecada (A Coruña), perteneciente a la red de estaciones automáticas de la Consellería de Medio Ambiente de la Xunta de Galicia, el verano de cultivo se caracterizó por la falta de precipitaciones, especialmente desde la siembra en mayo hasta julio, con un balance hídrico de -89 L/m², -121 L/m² y -91 L/m² en los meses de mayo, junio y julio, respectivamente. Las temperaturas hasta agosto fueron en general suaves.

Un mes después de la siembra, se inspeccionó todo el ensayo para detectar plantas con algún síntoma de enfermedad en hoja, recogiendo muestras de hojas con decoloración de cinco variedades. Trozos de estas hojas se dispusieron en cámara húmeda, sembrando además fragmentos de hoja en placas Petri con el medio de cultivo Komada, selectivo para especies de *Fusarium* (Komada, 1975), para forzar la esporulación de algunas especies fúngicas. Las placas se incubaron a 24 °C. Las colonias de *Fusarium* obtenidas se repicaron en medio PDA (Patata Dextrosa Agar), selectivo para hongos, para obtener cultivos monospóricos, que sirvieron de base para la identificación morfológica y molecular de especies.

El cinco de octubre de 2011, cuando el grano estaba en estado pastoso, en cada repetición, se cortaron tres plantas de la línea central de 25 de las variedades de maíz, separando hojas y porción de tallo por debajo de la mazorca, que se llevaron al laboratorio para su procesamiento inmediato. Hojas y tallos presentaban manchas amarillentas y pardo-amarillentas, indicando la presencia de patógenos fúngicos. En el laboratorio, trozos de tallo situados a uno-dos cm de los nudos de cada variedad se sembraron en medio Komada. Los aislados obtenidos se sembraron en los medios SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar), recomendado para incrementar la esporulación en el cultivo de *Fusarium*, y PDA.

Las especies de *Fusarium* aisladas en ambos muestreos se identificaron observando características macroscópicas (forma y pigmentación del micelio, velocidad de crecimiento de las colonias) y microscópicas (presencia/ausencia y forma de macroconidios, microconidios y clamidosporas). La identificación morfológica se complementó con la identificación mediante métodos moleculares, realizando un estudio de la región ITS del rDNA y una parte de la secuencia del gen del factor de elongación 1 α (gen EF-1 α) de especies de *Fusarium*. Para ello, se extrajo ADN a partir de micelio en cultivo y se amplificó con los primers ITS1-ITS4 y EF1-EF2, siguiendo los métodos de White *et al.* (1990) y O'Donnell *et al.* (2000), respectivamente. Los productos amplificados se secuenciaron en un equipo ABI PRISM 3130, comparando las secuencias obtenidas con las depositadas en el GenBank (NCBI, 2011) y en la base de datos de *Fusarium* del Broad Institute (2011). La identificación molecular de una especie se aceptó cuando el porcentaje de identidad de secuencia fue superior al 98%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En todas las muestras de hojas sintomáticas tomadas un mes después de la siembra, se detectó la presencia de especies de *Fusarium* (tabla 1). En una variedad se encontraron dos especies de *Fusarium* (*F. cerealis* y *F. oxysporum*) y en las otras cinco sólo una: *F. graminearum*, *F. oxysporum* o *F. sporotrichoides*.

Tabla 1. Especies de *Fusarium* detectadas en híbridos de maíz cultivados en Mazaricos (A Coruña) un mes después de la siembra.

Especies de <i>Fusarium</i>	Variedad de maíz híbrido				
	Mas 23.B	Mamilla	Stern	Gladi	Josquin
	<i>F. cerealis</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. sporotrichoides</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. sporotrichoides</i>
	<i>F. oxysporum</i>				

En el momento de cosecha, el 100% de las variedades de maíz presentaron tallos infectados por una o varias especies de *Fusarium*. Considerando todo el material analizado, se detectaron siete especies. Las de más prevalencia fueron *F. graminearum* y una especie (*Fusarium* sp.) no detectada previamente en España (tabla 2), cuya identificación está pendiente de confirmar. En menor proporción se encontraron *F. oxysporum* y *F. cerealis*, y en solo una ó dos variedades de maíz *F. arthrosporioides*, *F. avenaceum* y *F. sporotrichoides*. La mayoría de estas especies no habían sido detectadas con anterioridad en maíz en Galicia.

Tabla 2. Especies de *Fusarium* detectadas y prevalencia de cada una en 25 híbridos de maíz cultivados en Mazaricos (A Coruña) en el momento de corte para ensilado.

Especies de <i>Fusarium</i>	Prevalencia (%)
<i>F. graminearum</i>	92
<i>Fusarium</i> sp.	84
<i>F. oxysporum</i>	28
<i>F. cerealis</i>	16
<i>F. arthrosporioides</i>	8
<i>F. sporotrichoides</i>	8
<i>F. avenaceum</i>	4

En más de la mitad de los tallos analizados, se encontraron dos o más especies de *Fusarium*. *Fusarium graminearum* se encontró asociado a *Fusarium* sp. en 13 variedades, y en un número menor a *F. arthrosporioides*, *F. avenaceum*, *F. cerealis* y *F. oxysporum*. En los tallos de cuatro variedades se detectaron tres especies: *F. graminearum* y *Fusarium* sp. asociadas a *F. avenaceum* (var. Marcello) ó *F. cerealis* (var. Phileaxx) ó *F.*

oxysporum (var. DK 315 y Jennifer), y en una variedad (Columbia) cuatro: *F. graminearum*, *Fusarium* sp., *F. oxysporum* y *F. sporotrichoides*. Todas las especies identificadas son toxigénicas. *Fusarium graminearum* produce zearalenona y deoxivalenol (Logrieco *et al.*, 2002). Su alta prevalencia indica la posible presencia de estos tricotecenos en el forraje de la mayoría de las variedades estudiadas. Se ha demostrado que el nivel de deoxivalenol está directamente correlacionado con la presencia de *F. graminearum* (Visenti *et al.*, 2010).

Fusarium oxysporum produce beauvericina, enniatinas, fumonisinas, fusaproliferina y moniliformina (Leslie y Summerell, 2006; Dorn *et al.*, 2009), mientras que *F. cerealis* se ha encontrado frecuentemente asociada a la presencia de nivalenol y fusarenona-X, dos tricotecenos de estructura próxima al deoxinivalenol, en granos de maíz (Logrieco *et al.*, 2002). La fusarenona-X es más tóxica que el nivalenol, y éste es más tóxico que el deoxinivalenol. En cuanto a las especies de menor prevalencia, *F. arthrosporioides* y *F. avenaceum* pueden producir moniliformina, beauvericina y enniatinas (Golinski *et al.*, 1996; Logrieco *et al.*, 2002) y *F. sporotrichoides* produce T-2 (Visentin *et al.*, 2010), una de las toxinas más potentes producidas por el género, beauvericina, enniatinas, fusaproliferina y moniliformina (Dorn *et al.*, 2009).

En trabajos recientes, se han encontrado algunas diferencias de severidad entre algunos cultivares para la podredumbre de mazorca causada por *F. graminearum* (Löffler *et al.*, 2010), *F. verticillioides* (Clements *et al.*, 2004; Löffler *et al.*, 2010) y *F. proliferatum* (Robertson-Hoyt *et al.*, 2006). Sin embargo, en ciertas localidades, las condiciones climatológicas (sobre todo de estrés) la afectan enormemente, de manera que genotipos que muestran menor severidad en una localidad en otra están severamente afectados. Esto dificulta la posibilidad de hacer selección de cultivares por su resistencia a especies de *Fusarium* que causan podredumbre de mazorca. No hay estudios de resistencia de híbridos de maíz a la podredumbre del tallo causada por *Fusarium*.

CONCLUSIONES

La presencia de especies toxigénicas de *Fusarium* en tallos de 25 híbridos de maíz forrajero cultivados en la provincia de A Coruña, frecuentemente dos ó más por tallo, indica que los ensilados podrían presentar varias micotoxinas, algunas muy tóxicas, que podrían no solo disminuir la producción de forraje sino tener efectos negativos en la salud animal. La alta incidencia de *Fusarium graminearum* aconseja el análisis de micotoxinas, particularmente dioxinivalenol y zearalenona, en ensilados de maíz forrajero en Galicia para garantizar que no superan los límites impuestos en alimentación animal por la Unión Europea.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Ana García Servia y a Carmela Menduña Santomé su asistencia técnica en el procesado de muestras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BINDER E.M., TAN L.M., CHIN L.J., HANDL J. Y RICHARD A. (2007) Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients. *Animal Feed Science and Technology*, **137**, 265-282.
- BROAD INSTITUTE (2011) *Fusarium* comparative database. En: http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/fusarium_group/MultiHome.html (último acceso: diciembre 2011).
- BUTRÓN A., SANTIAGO R., MANSILLA P., PINTOS-VARELA C., ORDÁS A. Y MALVAR R.A. (2006) Maize (*Zea mays* L.) genetic factors for preventing fumonisin contamination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 6113-6117.
- CLEMENTS M.J., MARAGOS C.M., PATAKY J.K. Y WHITE D.G. (2004). Sources of resistance to fumonisin accumulation in grain and *Fusarium* ear and kernel rot of corn. *Phytopathology*, **94**, 251-260.
- DI MENNA M.E., LAUREN D.R. Y HARDACRE A. (1997) *Fusarium* and *Fusarium* toxins in New Zealand maize plants. *Mycopathologia*, **139**, 165-173.
- DORN B., FORRER H.R., SCHÜRCH S. Y VOGELGSANG S. (2009) *Fusarium* species complex on maize in Switzerland: occurrence, prevalence, impact and mycotoxins in commercial hybrids under natural infection. *European Journal of Plant Pathology*, **125**, 51-61.
- GOLINSKI P., KOSTECKI M., LASOCKA I., WISNIEWSKA H., CHELKOWSKI J. Y KACZMAREK Z. (1996) Moniliformin accumulation and other effects of *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. on kernels of winter wheat cultivars. *Journal of Phytopathology*, **144**, 495-499.
- JESTOI M. (2008) Emerging *Fusarium*-mycotoxins fusaproliferin, beauvericin, enniatins, and moniliformin - a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **48**, 21-49.
- KOMADA H. (1975). Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Review of Plant Protection Research*, **8**, 114-125.
- LESLIE J.F. Y SUMMERELL B.A. (2006) *The Fusarium Laboratory Manual*. Hoboken, NJ, USA: Blackwell Publishing.
- LÖFFLER M., KESSEL B., OUZUNOVA M., Y MIEDANER T. 2010. Population parameters for resistance to *Fusarium graminearum* and *Fusarium verticillioides* ear rot among large sets of early, mid-late and late maturing European maize (*Zea mays* L.) inbred lines. *Theoretical and Applied Genetics*, **120**, 1053-1062
- LOGRIECO A., RIZZO A., FERRACANE R. Y RITIENI A. (2002) Occurrence of beauvericin and enniatins in wheat affected by *Fusarium avenaceum* head blight. *Applied and Environmental Microbiology*, **68**, 82-85.
- LOGRIECO A., BOTTALICO A., MULE G., MORETTI A. Y PERRONE G. (2003) Epidemiology of toxigenic fungi and their mycotoxins for some Mediterranean crops. *European Journal of Plant Pathology*, **109**, 645-667.
- MANSFIELD M.A. Y KULDAU G.A. (2007) Microbiological and molecular determination of mycobiota in fresh and ensiled maize silage. *Mycologia*, **99**, 269-278.
- MARM (2010) Anuario de Estadística 2010. Madrid (España): Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- MUNKVOLD G.P. (2003) Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. *Annual Review of Phytopathology*, **41**, 99-116.
- MUÑOZ L., CARDELLE M., PEREIRO M. Y RIGUERA R. (1990) Occurrence of corn mycotoxins in Galicia (northwest Spain). *J.Agricultural and Food Chemistry*, **38**, 1004-1006.
- NCBI (2011) GenBank database. En: www.ncbi.nih.gov/Genbank (diciembre 2011).
- O'DONNELL K., KISTLER H.C., TACKE B.K. Y CASPER H.H. (2000) Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. *Proceedings of the National Academy Science*, **97**, 7905-7910.
- ROBERTSON-HOYT L.A., JINES M.P., BALINT-KURTI P.J., KLEINSCHMIDT C.E., WHITE D.G., PAYNE G.A., MARAGOS C.M., MOLNÁR T.L. Y HOLLAND J.B. (2006). QTL mapping for *Fusarium* ear rot and fumonisin contamination resistance in two maize populations. *Crop Science* **46**, 1734-1743.
- VISENTIN I., VALENTINO D., CARDINALE F. Y TAMIETTI G. (2010) DNA-based tools for the detection of *Fusarium* spp. pathogenic on maize. En: Gherbawy Y. y Voight K. (eds) *Molecular identification of fungi*, pp. 107-129. Berlín, Alemania: Springer-Verlag.
- WHITE T.J., BRUNS T., LEE S. Y TAYLOR J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J. y White T.J. (eds) *PCR protocols: a guide to methods and applications*, pp 315-322. San Diego, CA, USA: Academic Press.
- WU F. (2007) Measuring the economic impacts of *Fusarium* toxins in animal feeds. *Animal Feed Science and Technology*, **137**, 363-374.
- XUNTA DE GALICIA (2011) Anuario de Estadística Agraria. En: http://mediorural.xunta.es/institucional/estadisticas/anuario_de_estadistica_agraria (diciembre 2011).