

Hongos toxicogénicos causales de pudrición de espiga en maíz

Giménez Pecci, M.P.¹ y Presello, D.²

¹IPAVE-CIAP-PNCyO-INTA; ²EEA Pergamino PNCyO-INTA

Resumen

Las enfermedades de espiga causadas por hongos toxicogénicos en maíz reducen la productividad, calidad e inocuidad del grano. Estos patógenos producen micotoxinas que afectan la producción pecuaria e implican un riesgo para la salud de la población. Se discutirá la importancia del problema, los efectos del ambiente y del manejo sobre el desarrollo de estas enfermedades y las estrategias para morigerar sus efectos adversos.

Actas

Hongos toxicogénicos causales de pudrición de espiga en maíz. Evaluaciones en la zona agrícola centro-norte de Argentina

Giménez MP¹, Presello D², Lucini E³, Torrico K¹, Barontini J^{1,4}, Camiletti B^{3,4}

¹IPAVE-INTA; ²EEA Pergamino-INTA; ³UNC; ⁴CONICET

El problema de las micotoxinas en maíz, principalmente aflatoxinas, cobra actualidad por el incrementode la resistencia a eventos Bt, en las poblaciones de lepidópteros que afectan la espiga de maízen la zona agrícola centro-norte del país, lo cual favorece el ingreso de hongos a la espiga. También colaboran con este problema el notable incremento en las siembras tardías y la proporción del cereal que se almacena como estrategia comercial o para consumo animal en silos bolsas, con bajos controles del ambiente interno (Figura).

Aspergillus flavus y *A. parasiticus*, pertenecientes a la sección *Flavi*, son hongos patógenos oportunista en animales y plantas, se los encuentra como constituyentes normales de la micoflora del suelo y frente a determinados estreses hídricos y térmicos, pueden producir aflatoxinas B. Dependiendo de la cepa, *A. flavus* puede producir también ácido ciclopiazónico (ACP), mientras que *A. parasiticus* casi siempre produce aflatoxinas B y G pero no produce ACP (Perrone et al., 2014). Debido a que las aflatoxinas son un potente carcinógeno, se encuentran en revisión los límitesde 5 µg/kg paraaflatoxina B1 y de 10 µg/kg para aflatoxina total en granos de maíz, establecidos actualmente enel Codex Alimentarius de la Comisión Europea (EU, 2010).

La presencia de aflatoxinas en los cereales está asociada a infecciones a campo y a contaminaciones en condiciones de almacenamiento inadecuadas. Los factores que afectan la



contaminación de los granos incluyen la cantidad de inóculo (esporas), el estrés de las plantas durante su crecimiento, los daños mecánicos y los producidos por insectos, ácaros, otros hongos, aves, tormentas, la nutrición mineral de la planta y la temperatura ambiente, las variedades susceptibles o resistentes de las plantas (Rodríguez et al., 1993). Entre las estrategias que se emplean para reducir el impacto de las micotoxinas en el cultivo de maíz se pueden mencionar la rotación con cultivos que permite “cortar” el ciclo de los hongos que quedan en el rastrojo a lo largo de las diferentes campañas, el control de malezas durante el barbecho permitiendo que el agua edáfica quede disponible para el cultivo y disminuyan los períodos de estrés por sequía, facilitando además una mejor performance de las plantas ante estreses térmicos; siembras con calidad, que eviten plantas “dominadas”; selección de genotipo acorde a la zona; adecuada sanidad del cultivo evitando daño por insectos los cuales constituyen ventanas para el ingreso de patógenos; fertilización estrictamente acorde a las necesidades del cultivo y correcto almacenaje de los granos, entre otros. Sin embargo, los logros son erráticos y muy dependientes de las condiciones climáticas.



Espigas de maíz colectadas al azar en la localidad de Sachayoj, Provincia de Santiago del Estero en la campaña 2014/15, de diferentes híbridos empleados en la zona.

En IPAVE, Instituto de Tecnología de Alimentos y EEA Pergamino de INTA, junto con profesionales de UNC y UNRC, se están llevando a cabo investigaciones tendientes a la implementación de **herramientas de manejo** de *A. sección Flavi* en maíz por inquietud de productores en la zona agrícola centro-norte del país. Con este objetivo, en muestras de lotes de la Provincia de Santiago del Estero, Tucumán, norte de Córdoba y oeste de Santa Fe se iniciaron estudios para conocer la interacción entre diferentes componentes del sistema patogénico: la micobiota en las espigas de maíz que acompaña a *A. flavus*, incluyendo organismos presentes que pudieran emplearse para control biológico; la población de *Aspergillus* toxicogénicos en las espigas de maíz, el comportamiento de germoplasmas de maíz sembrados en el territorio y exploramos algunos aceites esenciales de plantas aromáticas con actividad antifúngica que puedan emplearse como una alternativa de control, evitando residuos de fungicidas en alimentos y el ambiente.

Conocer la población del hongo implica registrar, entre otras, sus características de producción de aflatoxinas y ACP, formación de esclerocios, grupos de compatibilidad vegetativa (GCV), proporción de cepas toxicogénicas y atoxicogénicas, en diferentes campañas agrícolas.

Se pretende aislar, desde las espigas de maíz colectadas a campo, cepas autóctonas de *A. flavus* con habilidad competitiva para que puedan desplazar del ecosistema a las productoras de toxinas, existiendo para esto dos posibilidades: la primera, cepas no productoras de micotoxinas, que no pertenezcan al GCV de las cepas toxicogénicas más frecuentes; y la segunda, detectar cepas hipovirulentas (portan virus que disminuyen la patogenicidad), que pertenezcan al GCV de las cepas toxicogénicas más frecuentes para que puedan infectarlas con los virus mediante anastomosis de hifas.

Otro enfoque central para el manejo integrado es determinar el comportamiento de **híbridos comerciales** usados en la región mediante análisis comparativos en las campañas con posibilidad de infecciones naturales o mediante inoculación forzada. Para esto último es importante identificar la técnica de inoculación más adecuada. Interesa también evaluar si existe efecto de los eventos transgénicos sobre la podredumbre de espiga y si disponemos de plantas cuyos aceites esenciales puedan emplearse para mitigar el problema sin el costo ambiental de los fungicidas de síntesis.

Los resultados hasta el presente indican que:

- 1. Micobiota en las espigas de maíz que acompaña a *A. sección Flavi*, incluyendo organismos presentes que pudieran emplearse para control biológico, en dos regiones maiceras (I y IV) de la zona en estudio.**

En el estudio realizado durante las campañas agrícolas 2012/13 y 2013/14, se identificaron diferentes géneros y especies fúngicas, entre ellos *Trichoderma*. Este género fue registrado previamente por Nesci y colaboradores (2006) en suelo precosecha de maíz en la región maicera IV; su detección actual en el econicho de espigas de maíz en pie (Camiletti et al., 2015c, 2017a), sugiere su potencial uso para biocontrol.

2. Géneros toxicogénicos prevalentes.

Fusarium fue el género que se registra en la mayor cantidad de muestras (incidencia) y mayor porcentaje de granos infectados por muestra (severidad) de espigas colectadas a campo en las regiones I y IV de la zona agrícola centro-norte analizadas durante 4 campañas agrícolas (2012/13 a 2015/16). Lo sigue el género *Penicillium* luego *Aspergillus* (Torricco et al., 2016, 2017; Camiletti et al., 2017a). Para *Aspergillus*, la incidencia y la severidad fueron muy variables (Camiletti et al., 2014b). De la sección *Flavi*, la especie más frecuentemente detectada fue *A. flavus* registrándose hasta el momento 1 aislamiento de *A. parasiticus* por cada 100 de *A. flavus* (Camiletti et al., 2017b), lo que concuerda con lo indicado por otros investigadores que *A. flavus* generalmente se encuentra en parte aérea de la planta y *A. parasiticus* en suelo (Perrone et al., 2014).

3. Población de *A. flavus* de espigas de maíz.

➤ Relevamiento de *Aspergillus flavus* en regiones I y IV, campañas 2012/13 y 2013/14.

El **73%** de las muestras colectadas durante las campañas 2012/13 y 2013/14 en la zona en estudio presentaron infección con *A. flavus*. No hubo diferencias en incidencia ni en severidad entre las regiones I y IV, pero sí se registraron diferencias entre campañas agrícolas analizadas: en **2012/13 todas las muestras**, de ambas regiones, presentaban el patógeno, con severidad variable entre 0,5 y 48% de granos infectados por muestra; mientras que en **2013/14 sólo el 25%** registró presencia de esta especie, con severidad entre 1 y 5% de granos infectados (Camiletti et al., 2017a).

➤ Frecuencias de cepas toxicogénicas y no toxicogénicas para aflatoxina B1 y para ACP

Se aislaron 82 cepas monospóricas de *A. flavus* desde espigas de maíz y se analizaron para la producción de aflatoxina B1 y ACP en medios de cultivo y en granos de maíz. En ambas regiones **predominaron los aislados no productores de aflatoxinas B1**, sólo un tercio de las cepas produjeron estatoxina. Entre las cepas productoras de aflatoxinas, la mayoría (44%) tiene baja producción (5 µg/g), la minoría (12%) tiene alta producción (30 µg/g), el resto tiene producción intermedia. La mayoría (77%) de las cepas productoras de CPA, también presentan baja producción de la toxina. El 84% de las cepas aisladas produjo ambas micotoxinas o sólo CPA. Apenas 16% (n=13) de las cepas fueron atoxicogénicas (Camiletti et al., 2017b).

➤ Grupos de anastomosis

El estudio de los GCV indican baja diversidad genética en la población, evidenciando especialización de las cepas que infectan las espigas.

➤ Aceites esenciales con capacidad antifúngica

Diferentes **aceites naturales** de plantas aromáticas y sus combinaciones, han sido evaluados como promisorios para el manejo de estas pudriciones, principalmente en tratamientos poscosecha. Entre ellos, se han probado con éxito los aceites esenciales naturales de varias especies, entre ellos: variedades e híbridos de orégano (*Origanum vulgare* L.), tres especies aromáticas nativas: dos de menta (*Mentha x piperita* L) y suico (*Tagetes minuta* L.), siendo todos aptos para inhibir el crecimiento del hongo destacándose el orégano como altamente. Se probaron también combinaciones de estos aceites naturales, algunas de las cuales tienen efectos sinérgicos que alcanzaron porcentajes de inhibición del crecimiento del hongo del 90% (Camiletti et al., 2014a, b, c, d, 2015a, b, d, 2016).

Consideraciones finales

Podemos concluir que en la zona agrícola centro-norte del país, la contaminación de granos de maíz con hongos toxicogénicos puede comenzar en precosecha. En la región I (subtropical) la máxima severidad detectada fue del 48%, mientras que en la región IV (templada) la severidad máxima fue del 5%, ambos casos en la campaña 2012/13. Por los estudios de GCV, pareciera haber especialización en las cepas que afectan la espiga y actualmente se cuenta con 13 cepas atoxicogénicas promisorias para evaluar su capacidad de exclusión competitiva de las cepas toxicogénicas. Se requiere continuar los estudios para identificar aquellas que puedan emplearse en biocontrol por exclusión competitiva o transmisión de hipovirulencia, así como poner a punto técnicas robustas para la evaluación de cultivares difundidos en cada región.

Financiación

Estos trabajos se realizan en el marco de Proyectos Específicos INTA PNCYO y PNPV y posgrados CONICET.

Referencias

- Camiletti B, CA sensio, P Quiroga, MLarrauri, MP Giménez Pecci, El Lucini. 2014a. Natural control of *Aspergillus flavus* and *Penicillium oxalicum* using new essential oils from Argentina". IFT Annual meeting and food expo. Julio. New Orleans, Luisiana. Estados Unidos.
- Camiletti BX, M Ferrer Lanfranchi, C Magnoli, E Lucini, MP Giménez Pecci. 2014b "Pudriciones de la espiga de maíz por *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp." Congreso Nacional de Maíz, 3 al 5 de septiembre de 2014. Rosario, Santa Fe, Argentina. Resumen ampliado disponible en página web del congreso.
- Camiletti BX, M Conles, MP Giménez Pecci, El Lucini. 2014c "Control de *Aspergillus flavus* y *Penicillium minioluteum* mediante aplicación de aceites esenciales". Presentado en el 3° Congreso Argentino de fitopatología. 4, 5 y 6 de Junio de 2014. San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina. Publicado en el libro del congreso. Pag. 336.
- Camiletti BX, CA sensio, MP Giménez Pecci, El Lucini. 2014d. Natural control of corn post-harvest fungi *Aspergillus flavus* and *Penicillium* spp. using essential oils from plants grown in Argentina. *Journal of Food Science* 79 (12), M2499-506.
- Camiletti BX, MP Giménez Pecci, El Lucini. 2015a. Control de *Aspergillus flavus* en granos de maíz almacenados mediante aplicación de aceite esencial de menta. XV CYTAL Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Noviembre 2015. Buenos Aires, Argentina. Disponible en libros de resúmenes.

- Camiletti BX, CMAensio, MCPrieto, LEDubini, MPMartin, AOcampo, EILucini. 2015b. MTT assay as an effective method to evaluate antifungal activity of essential oils against *Aspergillus flavus*". XI Congreso Argentina de Microbiología General. Agosto, Córdoba, Argentina. Disponible en libro del Congreso. Pag: 29-30.
- Camiletti BX, AK Torrico Ramallo, C Magnoli, J Barontini, R Comerio, E Lucini, MP Giménez Pecci. 2015c. Presencia de hongos causales de pudrición de la espiga de maíz en la región agrícola central de Argentina. XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Santa Fe. 7-9/10/2015. Resumen (ISSN 2451-8069): 38.
- Camiletti B, C Asensio, M Martin, MP Giménez Pecci, E Lucini. 2015d. Peppermint essential oil as a natural antifungal agent in maize grain. Instituto de Tecnología de Alimentos (IFT) 15 Annual Meeting, Chicago Illinois 11-14 July 15, Abstract.
- Camiletti BX, MP Giménez Pecci, EILucini. 2016 "Combinaciones entre aceites esenciales como posibles fungicidas naturales contra *Aspergillus flavus* en maíz (*Zea mays* L.)". IX International symposium on natural products chemistry and applications. Noviembre, 2016. Termas de Chillán, Chile.
- Camiletti BX, AK Torrico, MF Maurino, D Cristos, C Magnoli, EILucini, MP Gimenez Pecci. 2017a. Fungal screening and aflatoxin production by *Aspergillus* section Flavi isolated from pre-harvest maize ears grown in two Argentine regions. Crop Protection, 92, 41-48. <http://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.10.012>
- Camiletti BX, JMoral, AKTorrico, CMAensio, MPGiménez Pecci, EILucini, TJMichailides. 2017b. Characterization of an *Aspergillus flavus* population from Argentina and its potential use as biocontrol agents for mycotoxins in maize". APS Annual Meeting. Agosto, 2017. San Antonio, Texas, Estados Unidos.
- European Union. 2010. Reglamento (EU) No 165/2010 European Union Law, EUR-Lex 32010R0165. 26 de febrero de 2010 <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=celex%3A32010R0165>.
- Nesci A, G Barros, C Castillo, M Etcheverry. 2006. Soil fungal population in preharvest maize ecosystem in different tillage practices in Argentina. Soil Tillage Res. 91, 143e149. <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2005.11.014>.
- Perrone G., A. Gallo, A. Logrieco. 2014. Biodiversity of *Aspergillus* section Flavi in Europe in relation to the management of aflatoxin risk. Frontiers in Microbiology doi: 10.3389/fmicb.2014.00377
- Rodríguez J, C Patterson, M Potts, C Poneleit, R Beine. 1993. Role of selected arthropods in the contamination of corn by *Aspergillus flavus* measured by aflatoxin production. Alabama: Craftmaster Printers: 23-26.
- Torrico AK, M Druetta, B Camiletti, J Barontini, M Maurino, M Ferrer, E Lucini, MP Giménez Pecci. 2017. Patógenos fúngicos presentes en espigas de maíz en diferentes ambientes. 4to Congreso Argentino de Fitopatología. Del 19 al 21 de abril de 2017, Potrerillos, Mendoza Argentina. Libro de resúmenes (ISBN 978-987-24373-2-9): 201.
- Torrico AK, BX Camiletti, M Maurino, J Barontini, M Ferrer Lanfranchi, A Rodríguez, D Cristos, C Magnoli, E Lucini, MP Giménez Pecci. 2016. Hongos causales de pudrición de la espiga de maíz en la región agrícola central de Argentina. Primer Congreso de Maíz Tardío, 20/09/16, Pilar, Buenos Aires. <http://www.congresomaiztardio.com.ar/>.