



Estación Experimental Agropecuaria Pergamino “Ing. Agr. Walter Kugler” Grupo Maíz

Reacción de cultivares a hongos productores de micotoxinas en maíz

*Daniel Presello, *Juliana Iglesias, **Mariana Fernández,
*Carolina Fauguel, *Guillermo Eyhérbide y *Roberto Lorea

Una de las prácticas de manejo que puede reducir la contaminación con micotoxinas en grano de maíz es el uso de cultivares resistentes. El Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria financia un proyecto que tiene entre sus objetivos identificar cultivares resistentes a las especies fúngicas toxicogénicas prevalentes. Debido al permanente registro de nuevos materiales, la evaluación es un proceso continuo con el objeto de mantener la información actualizada. Este sitio recibirá modificaciones anuales con el agregado de información a fin de mantener actualizada una base de datos sobre resistencia a hongos toxicogénicos en el grupo de cultivares disponibles para la región maicera templada. La misma es de uso público y puede ser citada mencionando esta fuente.

Importancia del problema

El cultivo de maíz es afectado por patógenos fúngicos que causan podredumbres de grano y espiga, Entre los más frecuentes, *Fusarium verticillioides*, *F. graminearum* y *Aspergillus flavus* son importantes porque contaminan el grano con micotoxinas. El consumo de alimentos contaminados con estas toxinas causa enfermedades en humanos y animales que pueden llegar a ser fatales. En las industrias de producción de carnes, huevos o leche, en las que el maíz es una parte de la dieta, ocurren en forma frecuente epidemias de estas enfermedades que, aunque pueden ser sintómicamente poco visibles, afectan la productividad o la reproducción de los animales. Las micotoxinas más frecuentemente encontradas en maíz son las fumonisinas, producidas por *F. verticillioides* y otros hongos de la sección *Liseola* (Iglesias *et al.*, 2005); deoxinivalenol y zearalenona, producidas por *F. graminearum* y aflatoxinas producidas por *A. flavus*. Una forma de prevenir la contaminación, es el uso de cultivares menos susceptibles a estos patógenos. Este trabajo se realizó con el objetivo de obtener información sobre la resistencia de cultivares modernos de maíz a hongos toxicogénicos.

Materiales genéticos y métodos de evaluación

Se realizaron dos tipos de experimentos:

Ensayos inoculados a campo: Los cultivares fueron sembrados en un diseño de bloques completos aleatorizados en un arreglo factorial (cultivar x patógeno) con unidades experimentales de 50 plantas a una densidad de 72.000 plantas por m². La inoculación se realizó con suspensiones conidiales de *F. verticillioides* (aislamiento P364), *F. graminearum* (VI-II-3, gentileza UNLP) y *A. flavus* (RCM89, gentileza UNRC). Previo a la inoculación se probó la capacidad toxicogénica de todos los aislamientos. Se inocularon 2 ml de una suspensión conidial a una concentración de 1×10^6 esporas por ml mediante inyección en el canal de los estigmas. Se evaluó la severidad de síntomas mediante una escala visual de porcentaje de área de la espiga afectada. Se determinó la concentración de micotoxinas en grano (fumonisinas FB1 y FB2, deoxinivalenol, zearalenona, y aflatoxinas B1, B2, G1 y G2), mediante cromatografía líquida de alta performance.

*Técnicos del Grupo Mejoramiento de Maíz Mejoramiento Vegetal INTA Pergamino

** Técnica Grupo Fitopatología Fitopatología INTA Pergamino

Ensayos inoculados en laboratorio: Dado que los mayores problemas de contaminación con *A. flavus* ocurren en postcosecha, para esta especie los híbridos fueron evaluados en una simulación de almacenamiento en condiciones inadecuadas, mediante la técnica *kernel screening assay* (KSA) desarrollada en la Universidad de Nueva Orleans. Brevemente, 24 granos de cada híbrido fueron esterilizados superficialmente mediante inmersión en hipoclorito de sodio al 25% durante 5 minutos. Inmediatamente después, se realizó un enjuague rápido y luego tres lavados por inmersión de 1 minuto cada uno con agua destilada estéril. Posteriormente se inoculó con *A. flavus* mediante inmersión de los granos en una suspensión de esporas a una concentración de 4×10^6 conidios/ml ([Fernández et al., 2009](#)). Los granos inoculados se colocaron en placas multipozos de acrílico en cápsulas de 3,3 ml (8x12 cm, con 24 pozos, Greiner Bio-one, Alemania) a razón de un grano por pozo, las placas se taparon y se colocaron en una cámara húmeda con 80% de humedad. Se realizaron tres repeticiones por híbrido. Luego de siete días de crecimiento, se evaluó el área visiblemente afectada de cada grano y se realizó el análisis de variancia en base al promedio de cada repetición.

La elevada cantidad y tasa de recambio de los híbridos inscriptos dificulta una evaluación en un esquema clásico en que se analiza una matriz rectangular de *g* genotipos en *e* ambientes. A fin de evaluar el mayor número de cultivares posible con los fondos disponibles, cada genotipo fue evaluado por un período máximo de dos años. En todos los experimentos se incluyó un híbrido experimental susceptible a *Fusarium* (L4641xL4973) y otro susceptible a *Aspergillus* (L6856xL4973), ambos desarrollados por INTA. Estos materiales fueron usados como criterio de comparación para decidir que híbridos deberían continuar el proceso de evaluación. Todo cultivar con medias de severidad de síntomas inferior a la de estos testigos fue incluido en un segundo año de evaluación y se le tomaron muestras para determinar contenidos de micotoxinas en grano. Dos de los híbridos comerciales que mostraron mayor nivel de resistencia a podredumbres de espiga durante los dos primeros años, también fueron incluidos en el tercer año de ensayos y se continuarán utilizando como testigos resistentes en evaluaciones futuras. De esta manera, se podrán introducir a la evaluación los nuevos cultivares y realizar comparaciones en base a estos testigos.

En 2006, se incluyeron evaluaron 58 híbridos, 25 de los cuales fueron selectos para la evaluación en 2007 por haber expresado los mayores niveles de resistencia en relación a los testigos. En 2007, se evaluaron estos 25 híbridos junto con 26 nuevos materiales. En 2008, se evaluaron 29 híbridos, 13 de los cuales no habían sido incluidos en evaluaciones anteriores y el resto fueron los destacados en 2007 ([Tabla 1](#)).

Los mismos híbridos fueron incluidos en la red de evaluación de cultivares conducida por la Estación Experimental Pergamino en el norte de la provincia de Buenos Aires. Las medias de rendimiento y de severidad de síntomas fueron expresadas en porcentajes respecto a la media del ensayo y se elaboró un biplot a fin de comparar la productividad y la resistencia de los genotipos.

Resultados

En esta comunicación se presentan los resultados de tres años de trabajo ([Tabla 1](#)). La información sobre severidad de síntomas está completa y los datos de concentración de micotoxinas en grano del tercer año serán agregados cuando estén disponibles.

Ensayos inoculados a campo

Severidad de síntomas

Los rangos de severidad de síntomas en ensayos a campo variaron desde 0.0-9.6, 5.0-59.8 y 2.6-75.8% de la espiga afectada, para *A. flavus*, *F. verticillioides* y *F. graminearum*, dependiendo del híbrido y año de evaluación ([Tabla1](#)). Estos resultados indican que existe un marcado nivel de variabilidad para resistencia a podredumbres de espiga en el germoplasma disponible para la producción.

La interacción genotipo x ambiente fue significativa y se observó que mientras algunos híbridos se destacaron sólo en uno de los dos años de evaluación, otros mantuvieron menor severidad de síntomas en comparación a los del testigo susceptible en ambos años ([Tabla2](#)).

Las medias de severidad de síntomas promedio para ambas *Fusarium* spp. mostraron una amplia dispersión en relación a las medias de rendimiento ([Figura 1](#)). Ambas variables parecen tener una distribución independiente con algunos híbridos expresando alta productividad y resistencia a la enfermedad.

Concentración de micotoxinas en grano

Se observaron diferencias entre cultivares para concentración de deoxinivalenol y zearalenona en los ensayos de 2006 y 2007 y para aflatoxinas B1 en 2006. En 2007, los niveles de severidad de síntomas luego de la inoculación con *A. flavus* alcanzaron escaso nivel de variabilidad y por lo tanto no se analizó el contenido de aflatoxinas en grano. Las determinaciones de concentración de fumonisinas en las parcelas inoculadas con *F. verticillioides* se llevaron a cabo en 2006 y 2007, pero por problemas que aún no fueron identificados, los resultados analíticos no están acordes, de acuerdo a experiencias previas, con los niveles de síntomas observados y por lo tanto no son presentados. Si bien podría existir resistencia a la acumulación de micotoxina en genotipos susceptibles a *F. verticillioides*, resultados previos ([Presello et al., 2006](#)) de trabajos realizados sobre cultivares argentinos indican que el nivel de severidad de síntomas es un buen indicador del contenido de fumonisinas en grano y por lo tanto es esperable que la mayoría de los híbridos que expresaron bajo nivel de severidad de síntomas también tengan niveles bajos de contaminación.

Las concentraciones de deoxinivalenol y zearalenona en los híbridos evaluados en estos experimentos también estuvieron altamente asociadas con el nivel de síntomas de *F. graminearum* ([Figura 2](#)). Las concentraciones de ambas toxinas estuvieron asociadas en forma positiva ([Figura 3](#)) y la relación deoxinivalenol/zearalenona varió de 2 a 18, dependiendo del híbrido y año de evaluación. Dado que no se detectaron diferencias significativas entre cultivares para esta relación, es probable que las variaciones observadas tengan un origen ambiental. Las concentraciones de aflatoxina B1 en granos inoculados a campo con *A. flavus*, también estuvieron asociadas a la cantidad de síntomas aunque con un coeficiente de determinación algo menor.

Kernel screening assay

En ambos años de ensayo, 2006 y 2007, la dispersión entre híbridos fue relativamente baja en comparación a la observada en los experimentos a campo ([Tabla1](#)). Se encontraron algunas diferencias entre híbridos en la proliferación de *A. flavus*, pero de escasa magnitud y en la mayoría de los casos no consistentes entre años ([Tabla 1](#)). Estudios previos indican que los granos dañados son más susceptibles a hongos de

almacenamiento porque las alteraciones físicas, mayormente en las capas externas, facilitan la entrada del patógeno. Los granos para estos estudios fueron desgranados a mano a fin de no alterar su integridad física. Una posible modificación para evaluaciones futuras es la inclusión de un tratamiento de daño en las capas externas del grano simulando lo que suele ocurrir durante la cosecha y procesamiento.

Consideraciones finales

El grupo de 97 híbridos de maíz evaluado por resistencia a hongos toxicogénicos mostró variabilidad para reacción a *Fusarium* en condiciones de campo con híbridos mostrando resistencia a ambas especies fúngicas. La variabilidad para reacción a *A. flavus* en condiciones de campo fue escasa y detectable sólo en algunos años. Estos resultados son consistentes con la mayor habilidad de *Fusarium* en relación a *Aspergillus* para crecer con altos los contenidos de agua libre en grano que ocurren en condiciones de campo.

Las medias de severidad de síntomas estuvieron asociadas con la concentración de micotoxinas en grano. Estos resultados indican que es posible reducir el contenido de micotoxinas en grano mediante el uso de los híbridos disponibles con mayor nivel de resistencia.

Se identificaron híbridos resistentes a algunas de estas podredumbres de espiga y con alto nivel de productividad en la región, indicando que la elección del cultivar en base a la resistencia para producir grano con bajo contenido de micotoxinas no implica sacrificar potencial de rendimiento del cultivo.

Hay que tener en consideración que estas evaluaciones son producto de experimentos inoculados en los que la presión de las enfermedades es mayor que los que normalmente ocurre en condiciones de infección natural y por lo tanto es probable que algunos híbridos que en estos ensayos se presentan como susceptibles puedan expresar bajo nivel de síntomas en años de epifitias moderadas. También es esperable que los híbridos que presentaron buen comportamiento con la elevada presión de enfermedad causada por la inoculación, lo mantengan aún en los años de epifitias severas.

Tabla 1: Reacción a podredumbre de espigas y concentración de micotoxinas en híbridos de maíz inoculados a campo con *Fusarium verticillioides*[†], *F. graminearum* y *Aspergillus flavus*[‡].

Híbrido	Severidad de podredumbre de espiga								Concentración de Micotoxinas								KSA		
	<i>A.flavus</i>		<i>F.verticillioides</i>			<i>F.graminearum</i>			<i>(F.graminearum,ppb)</i>				<i>(A.flavus,ppb)</i>				<i>(A.flavus)</i>		
									Zearalenona				Aflatoxinas						
	2006	2007	2006	2007	2008	2006	2007	2008	2006	2007	2006	2007	2006	2007	B1	B2	G1	G2	2006
31B18 MG	1.2*	0.0*	10.7*	39.7		62.3	21.9							0.9*	0.4	ND	ND	32.2	38.1
31F25	1.6*	0.8	17.0*	34.9		52.1*	17.6*												41.4
31P77 MG	9.6		59.8			55.2								3.4	0.2	ND	ND	28.8	
31Y04 MG	4.1		20.2			64.0													

33Y45 RR2	2.3*		24.6			52.7*													
ACA 2000	1.5*	3.1	9.4*	35.1		50.5*	7.3*		25284		6172		2.2*	0.2	ND	ND	29.3	30.3	
ACA 2001	1.7*		12.2*			54.4*													
ACA 2001MG	1.9*		10.9*			59.0													
ACA 2005MG	1.2*		10.2*			56.8													
ACA 2006	0.6*	0.6	18.0*	27.4		43.1*	19.6		34241		2156		3.7	0.8	ND	ND	29.0	43.1	
AM8323	9.4		40.2			75.8							9.3	0.8	ND	ND	28.1		
AM8330 MG	1.9*	1.1	9.7*	20.2*		34.9*	7.0*		14780	3542	2083	828	1.3*	0.2	ND	ND		29.6	
AW190 MG	1.9*	0.0*	12.7*	40.8		19.3*	13.7*		14069		1355		2.9	0.2	ND	ND	26.1	30.5	
AX744 MG	1.0*		17.4*			51.0*													
AX842	0.8*		14.6*			65.7													
AX842 TDMAX	0.5*		13.7*			68.1													
AX882 CLMG	3.0	1.5	12.0*	32.2		21.1*	9.5*		6108*		709*		1.7*	0.5	ND	ND	39.9	33.6	
AX892 MG	1.4*	0.3	8.4*	15.0*		28.6*	13.8*		13892	2194	2659	429	2.1*	0.4	ND	ND	29.4	29.6	
AX895	0.7*		13.5*			58.6													
AX895 TDMAX	1.2*		15.3*			64.4													
Cedric CL	1.9*		15.6*			30.1*													
Cedric MG	1.3*		10.4*			35.9*													
Centinela	0.6*		12.4*			44.4*													
Cóndor	3.4		12.4*			41.9*													
DK670MG	0.5*	0.6	11.3*	31.9		19.6*	9.4*		11075*		1195		4.4	0.4	ND	ND	26.5	30.1	
DK684 RR2	1.0*	0.2	9.7*	38.9		22.5*	15.8*		12559*		693*		2.8*	0.6	ND	ND	25.5	30.3	
DK700 MG	0.9*		13.8*			26.5*													
DK747 MG	1.1*	0.3	16.0*	38.3		18.9*	18.6											30.4	
Don Luna	1.6*	1.0	17.3*	42.3		27.9*	13.9*		9121*		1494		0.9*	0.2	ND	ND		31.9	
FR 098	1.2*		20.1			38.7*												27.9	
H2740 MG	1.9*	0.6	5.8*	31.9		26.7*	8.9*		11555*		814		1.3*	0.2	ND	ND	33.9	29.2	
H2765	5.5		24.5			49.7*													
Imperio Plus	4.9		20.1			41.7*													
LT620 MG	1.6*	0.5	10.8*	30.1	3.2*	20.5*	3.9*	17.5*	8345*	3760	469*	580	3.0	0.4	ND	ND	29.4	31.6	
LT622 MG	0.6*	2.6	8.8*	9.8*	4.2*	9.3*	3.6*	7.1*	5186*	3385	291*	654	1.0*	0.2	ND	ND	27.2	38.8	
Marzo Rojo BT	1.0*	2.1	6.6*	30.1		34.2*	31.2												45.8
Mass 477 HX	5.2		27.2			66.7													
Mass 484 MG	4.0		17.6*			61.6													
Mass 494 MG	1.0*	2.0	11.2*	23.0		26.7*	6.0*		13063	1255	1048	392	2.5*	0.2	ND	ND	31.8	38.7	
Mass 534 MG	2.2*		8.0*			38.8*													
Mill 522	1.1*	2.1	9.8*	16.6*		31.6*	24.0		11080*		1120		0.9*	0.2	ND	ND	30.5	38.4	
NK 940	1.4*	0.7	15.9*	34.4		49.5*	7.7*		21299		2412		1.2*	0.4	ND	ND	30.5	28.5	
NK780 TDMAX	1.3*		19.9			54.8													
NK880 TDMAX	6.2		16.8*			67.3							4.4	0.4	ND	ND	26.1		
NK900TDMAX	4.5	3.4	14.0*	33.9		45.9*	28.1		16975		2924		0.6*	0.5	ND	ND	30.4	31.6	
Olympus Plus	3.0		17.9*			51.4*													
PAN6046	1.9*	1.6	17.9*	23.0		47.8*	12.9*		23955		2929		3.0	0.4	ND	ND		34.5	
PRIMUS MG	0.6*	0.8	5.0*	16.7*		33.3*	8.3*		17309		3046		2.8*	0.2	ND	ND	27.9	31.8	
RT 2O5	1.4*	0.4	9.6*	33.2		24.6*	11.5*		11805*		940		5.3	0.6	ND	ND	27.6	42.5	
Siroco TDMAX	3.4		28.0			59.4													
SPS 2603 MG	0.8*		8.3*			47.5*													
SPS 2720 MG	0.9*		10.1*			55.2													

SPS 2722	0.8*		20.4			71.5													
SPS 2790	0.5*	4.6	16.4*	25.9		14.0*	11.8*		7756*		1621		1.5*	0.2	ND	ND		28.9	28.6
SRM540MG	0.9*		17.4*			61.4													
SRM571 MG	3.9		16.9*			54.2*													
SRM573	0.8*		17.1*			45.3*													
TornadoTDMAX	5.0		25.8			66.8													
Trilenium 500 BT	0.7*	0.5	10.7*	23.7		33.2*	17.4		16698		2135		0.9*	0.2	ND	ND		25.5	31.3
213CL		0.8		25.3	5.1		10.4*	22.3											29.4
ACA-417 RR2		1.3		27.2	4.0*		6.9*	23.7		2088		1020							27.0
ACA-472MG		1.4		8.7*	4.2*		2.6*	2.5*		747*		156							32.6
ACAHC467MG		0.2		21.2*	5.7		36.5	14.1*											27.7
AX852 MG		0.4		15.0*	5.2		29.5	48.8											28.3
AX878MG		0.7		25.8	9.2		11.0*	18.4*		8196		1440							37.4
AX886MG		2.0		20.5*	8.6		19.1	17.6*		6685		830							28.6
BZ Chiv.Plus GLR		3.7		50.8			16.5*												40.4
DK699 MG		0.3		13.3*			17.7			1191		346							40.7
H2741 MG		1.2		27.9	6.3		6.0*	15.3*		5503		1004							28.8
I-880		0.8		22.1	4.9		11.1*	19.4*		685*		136							38.7
I-902MG		2.6		32.1			26.7												39.1
I-905		2.5		36.5			10.8*												33.1
Mill 527		0.3		31.2	5.3		9.5*	19.9*		2008		121							36.4
NK795 TDMAX		2.1		51.7			26.3												39.9
NK807 TDMAX		1.7		48.1			18.8												48.9
NK910TDMAX		0.2		27.2	4.5		12.4*	25.8		7142		699							39.0
P2053Y		4.6		37.6	7.0		18.4	32.9											51.3
Pampero		9.4		31.7			17.8												33.5
PAN4Q326MG		1.4		19.4*	9.9		6.0*	16.5*		5976		1658							36.6
PAN5E202		2.3		20.6*			5.6*			1188*		940							44.2
SPS 2720		1.2		44.1			17.6												29.9
SPS 2729RR2		0.8		33.7			35.5												31.9
SRM541MG		1.7		21.7	3.8*		9.0*	31.1		8344		2300							34.4
SRM562MG		0.5		26.9	3.4*		10.5*	36.6		11117		1760							34.4
SRM565MG		0.9		45.1			11.9*												30.8
Baqueano						6.9		25.9											
DM2738MG						4.2*		12.5*											
ZE 464 MGCL						12.2		47.3											
ZM 545 Hx						3.9*		19.3*											
ZM 552 Hx						7.2		31.0											
FR 4024						11.0		27.3											
Excalibur						6.9		24.9											
Troya						3.0*		23.4											
DK699MGRR2						2.0*		6.9*											
AX894						19.8		32.1											
SPS5M05TDMX						6.1		38.7											
SPS 7M31MG						4.9		24.3											
L6856xL4973	6.0	3.6	21.6	38.0	23.4	41.9	22.2	41.5	18227	10989	2642	2170	7.0	0.2	ND	ND		30.3	30.5

L6856xL4973 no inoculado	<1	0.0	10.5	9.7	8.0	<1	<1	<1										
L4641xL4973	1.1	1.6	40.6	44.6	9.3	65.8	26.8	35.6	42000	7666	2970	868	1.4	0.2	ND	ND	27.2	31.9
L4641xL4973 no inoculado	<1	0.0	10.2	11.8	7.2	<1	<1	<1										

Referencias:

†: Las concentraciones de fumonisinas en los tratamientos inoculados con *F. verticillioides* aún no están disponibles.

‡: Las concentraciones de aflatoxinas en 2007 y 2008 no fueron llevadas a cabo debido a la ausencia de variabilidad entre cultivares para severidad de síntomas.

*: Media diferente a la del testigo susceptible inoculado a un nivel de probabilidad de 0.05.

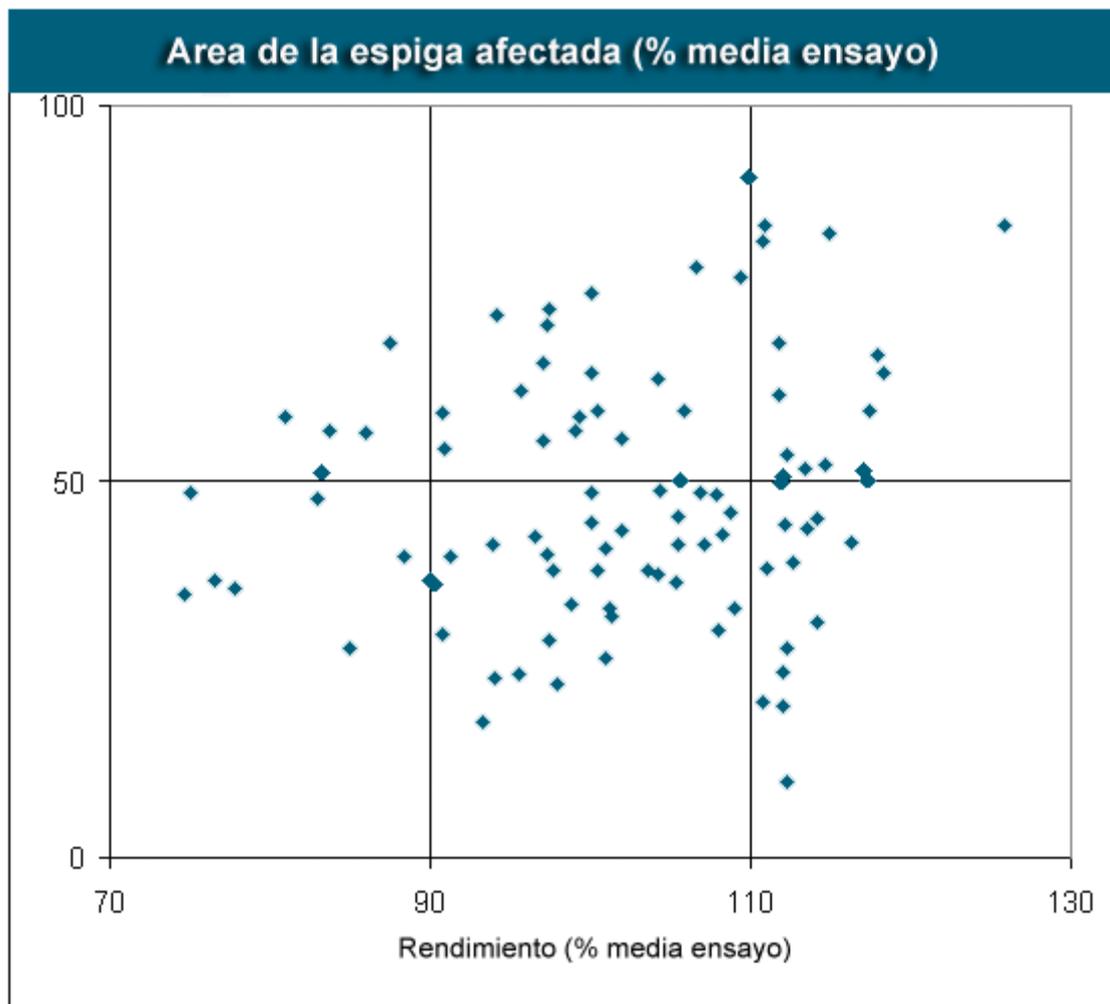
ND: No detectable

Tabla 2: Híbridos de maíz con medias de severidad de síntomas menores a las del testigo susceptible en dos años de evaluación (2006/2007 ó 2007/2008) en ensayos inoculados con hongos causantes de podredumbre de espiga.

Híbrido	Hongo [†]	
	<i>F. graminearum</i>	<i>F. verticillioides</i>
ACA 2000	■	
ACA 472MG	■	■
AM8330 MG	■	■
RT 205	■	
H2740 MG	■	
H2741 MG	■	
Mass 494 MG	■	■
Mill 527	■	
Don Luna	■	
I-880	■	
AW190 MG	■	
DK670MG	■	
DK684 RR2	■	
DK747 MG	■	
AX878MG	■	
AX882 CLMG	■	
AX892 MG	■	■
PAN 4 Q326MG	■	
PAN6046	■	
31F25	■	
LT620 MG	■	
LT622 MG	■	■
SPS 2790	■	
Primus MG	■	■
NK 940	■	
NK 940	■	

†: Consultar las medias para cada año y patógeno en [Tabla1](#).

Figura 1: Distribución de rendimientos y promedio de severidad de síntomas de podredumbre de la espiga causadas por la inoculación de *Fusarium graminearum* y *F. verticillioides* (promedio) en 97 híbridos de maíz.



Los datos de rendimiento fueron obtenidos de ensayos comparativos realizados en el norte de la Provincia de Buenos Aires y los de severidad de síntomas, en experimentos inoculados llevados a cabo en la [Estación Experimental Pergamino, durante las campañas 2006/2007, 2007/2008 y 2008/2009](#) (Tabla 1).

Las medias fueron obtenidas en ambientes diferentes y expresadas como porcentaje de la media del ensayo a fin de hacerlas comparables.

Figura 2: Concentración de deoxinivalenol (DON) y zearalenona (ZEA) en función de la severidad de síntomas en híbridos de maíz evaluados durante dos años luego de ser inoculados con *Fusarium verticillioides*.

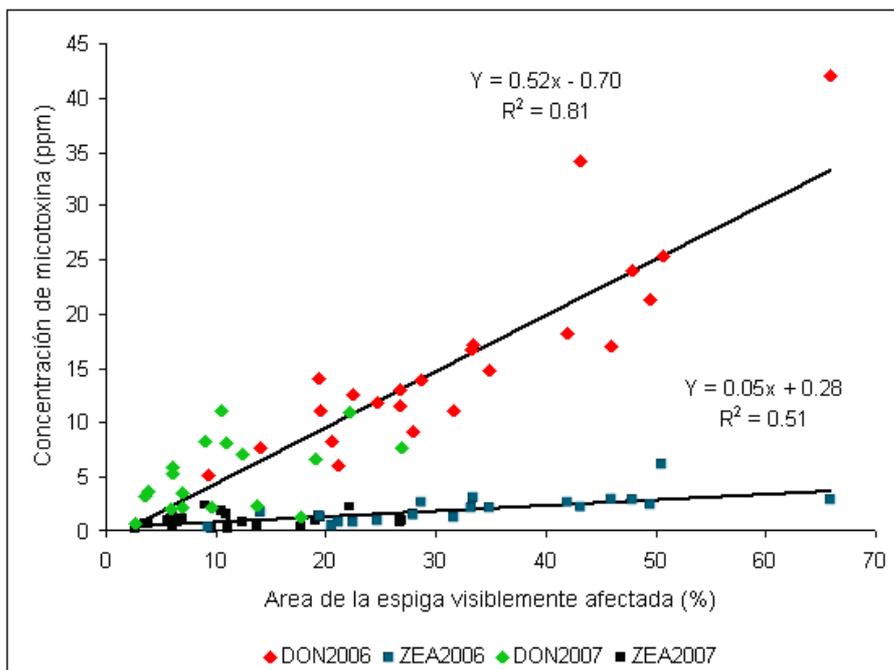
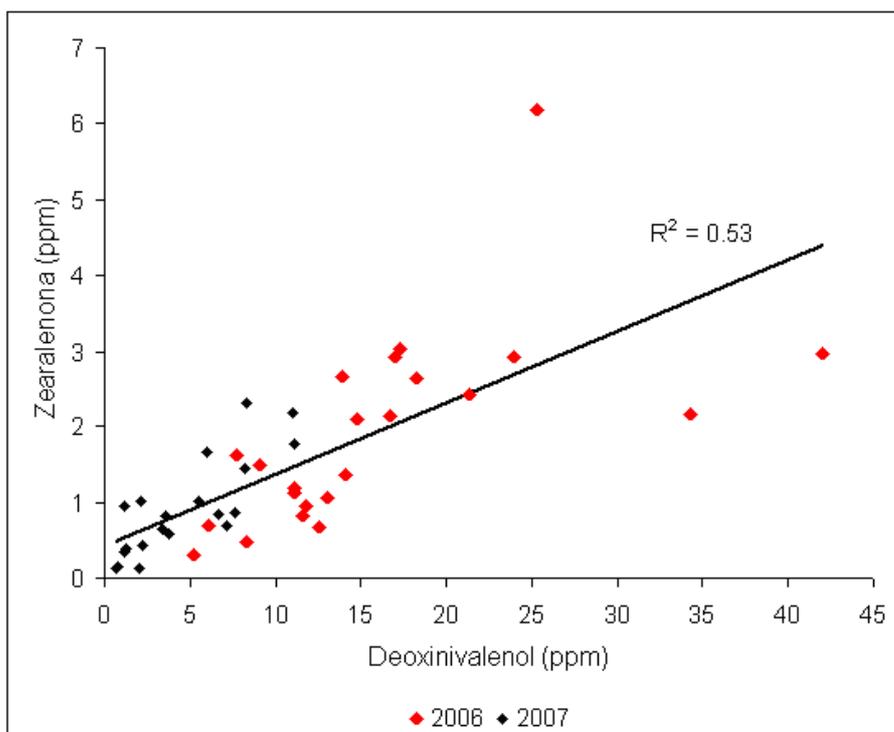


Figura 3: Asociación entre la concentración de deoxinivalenol y zearalenona en grano de híbridos de maíz evaluados durante dos años en ensayos inoculados con *Fusarium graminearum*.



Se autoriza su publicación citando la fuente.

Mas información en <http://www.inta.gov.ar/pergamino/investiga/Grupos/maiz/maiz.htm>