

PMP

PARA MEJORAR LA PRODUCCIÓN / 58

Estación Experimental Agropecuaria Oliveros Centro Regional Santa Fe



**Valor agregado / Calidad de semillas / Comportamiento de cultivares / Malezas
Enfermedades / Manejo de cultivos / Manejo de fitosanitarios
Manejo de sistemas de producción / Producción animal**

■ Ediciones

Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria

Publicaciones
Regionales





Identificación de hongos en espigas de maíz tardío y acumulación de fumonisinas y DON durante el secado a campo.

Espósito, M. A.^{1,2,3}; Ferraguti, F.¹

1 Estación Experimental INTA Oliveros. 2 Cátedra Mejoramiento Vegetal y Producción de Semillas-Facultad Ciencias Agrarias-Universidad Nacional de Rosario. 3 Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - CONICET.

 Palabras clave: maíz tardío, secado a campo, hongos en espigas.

Introducción

La superficie sembrada con maíces de segunda y tardío se ha incrementado considerablemente en el centro-sur de Santa Fe superando inclusive, en algunas zonas, a la superficie destinada a los maíces de primera. Esto se debe, principalmente, a que las siembras tardías tienen una mayor base de rendimiento y mayor estabilidad (Ferraguti *et al.*, 2016), ya que el período crítico del cultivo se sitúa en días con mayores probabilidades de precipitaciones y menores chances de sufrir un golpe de calor cuando el número y peso de granos se está definiendo (Maddonni, 2012). Sin embargo, el cultivo se expone a una mayor presión de plagas y enfermedades causadas por hongos. Estos últimos, afectan la espiga colonizando los granos, lo que provoca pérdidas en el rendimiento y deterioran la calidad comercial (Presello *et al.*, 2004). Adicionalmente, algunos hongos producen micotoxinas que se acumulan en los granos y son un riesgo para la salud de humanos y animales que los consumen. Es común que en una espiga de maíz coexistan más de un patógeno, por lo tanto, es frecuente hallar granos contaminados con más de una micotoxina.

Los hongos micotoxigénicos que habitan frecuentemente en las espigas en la zona maicera núcleo son los pertenecientes al género *Penicillium*, *Aspergillus* y *Fusarium*. *Penicillium* y *Aspergillus*

contaminan los granos con ocratoxinas y aflatoxinas respectivamente, mientras que dentro del género *Fusarium*, las micotoxinas producidas pueden ser Fumonisinas (FBs), Zearalenonas (ZEA) o Tricoteceenos como el deoxinivalenol (DON) entre otras (Glenn, 2007). Las fumonisinas encontradas en granos de maíz son producidas, principalmente, por *Fusarium verticilloides*, *Fusarium subglutinans* y *Fusarium proliferatum*, mientras que la presencia de DON se asocia con la presencia de *Fusarium graminearum* (De Rossi *et al.*, 2017). La presencia de hongos en la espiga y la consecuente contaminación con micotoxinas depende de factores ambientales como la temperatura y humedad relativa disponible en pre y/o post cosecha (Paterson y Lima, 2010). Martínez y Moschini (2014) demostraron a través de un modelo predictivo que las siembras tardías son más propensas a contenidos altos de fumonisinas. Recientemente, Moschini *et al.*, 2018 estudiaron para maíz el efecto de las condiciones meteorológicas en precosecha sobre el contenido de fumonisinas. Allí, postulan que existen dos ventanas para la entrada de *Fusarium*: una en torno a la aparición de la espiga y la segunda, si las condiciones son favorables, cercana a la madurez fisiológica.

En los maíces tardíos, el proceso de secado del grano es mucho más lento ya que la madurez fisiológica se alcanza en otoño, cuando la temperatura media es más baja y la humedad relativa es mayor. En general, el cultivo permanece en el campo durante el invierno y la cosecha se retrasa hasta agosto inclusive. Durante este período, la severidad de en-



fermedades de espiga aumenta y se han reportado valores alarmantes de micotoxinas asociados a mayor permanencia del cultivo en campo (Ferraguti *et al.*, 2016).

El objetivo de este trabajo es identificar las especies de *Fusarium* y otros hongos patógenos presentes y el contenido de fumonisinas en un cultivo de maíz tardío durante la etapa de secado a campo en la localidad de Oliveros.

Materiales y métodos

Durante la campaña agrícola (2017-2018) en el campo de la Estación Experimental INTA Oliveros se implantó en fecha tardía (20/12/2018) un híbrido comercial con susceptibilidad a enfermedades de la espiga, de acuerdo a evaluaciones realizadas por Presello *et al.*, 2015. En dicho lote se seleccionaron aleatoriamente puntos de muestreos donde se recolectaron espigas en 4 momentos con 3 repeticiones. (mayo, junio, julio y agosto) (Foto 1).

En base a una muestra de 50 espigas por repetición, se evaluó severidad de enfermedades de espiga de acuerdo a la escala de Reid *et al.*, 1996. Para la identificación de patógenos, se seleccionó un grano del sector medio de cada espiga constituyendo una muestra de 50 granos seleccionados, el resto de los granos fue molido y enviado a laboratorio para determinación de fumonisinas mediante la técnica ELISA. Cada muestra de 50 granos se lavó con agua corriente y se desinfectó con alcohol 70% por 45 segundos. Luego, se trataron con una solución de hipoclorito de sodio al 1% por 10 minutos y se lavaron tres veces con agua destilada estéril.

f1

Foto 1. Espigas recolectadas a campo con daño visible de hongos y granos brotados.



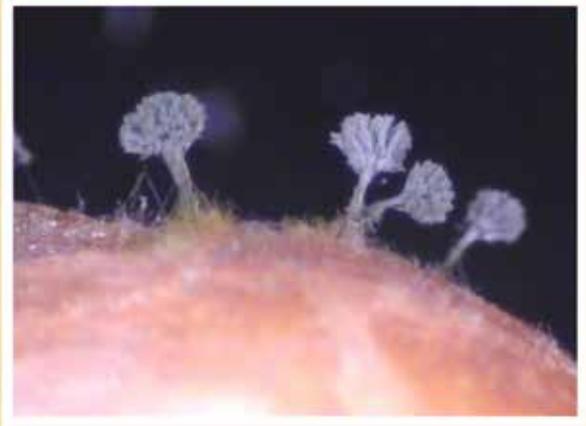
f2

Foto 2. Blotter test de las semillas provenientes de las espigas infectadas.



f3

Foto 3. *Penicillium* sp. sobre grano de maíz (gentileza Marta Montero, Laboratorio de Semillas EEA INTA Oliveros).



f4

Foto 4. Cámara de cultivo del Laboratorio de Semillas de la EEA INTA Oliveros.





Finalmente, se secaron con papel absorbente estéril y se colocaron en cámaras húmedas, de acuerdo al método de Blotter Test (Foto 2) (Scandiani y Luque 2009). Una vez apreciada la aparición de estructuras fúngicas, se tomaron fragmentos de micelio desde semillas contaminadas y se sembraron en placas de Petri conteniendo el medio agar-clavel y se incubaron

en cámaras de cultivo a 24°C con 12 horas de luz UV y 12 horas de oscuridad (Foto 4). El medio agar-clavel se preparó con 20g de agar en un litro de agua estéril y se esterilizó en autoclave. Luego de distribuir el medio en las cajas de Petri esterilizadas, se colocó un trozo de hoja de clavel previamente esterilizada.

Al cabo de 14 días de incubación, se realizaron preparados y se observaron bajo microscopio óptico para identificar géneros de hongos patógenos y en el caso de *Fusarium*, las especies de acuerdo a las claves descriptas por Nelson *et al.* (1983).

f5

Foto 5. Esporodocio de *F. proliferatum* desde donde se originan macroconidios casi rectos con célula basal en forma de pie. Se observan numerosos microconidios unicelulares con forma de clava.



Resultados

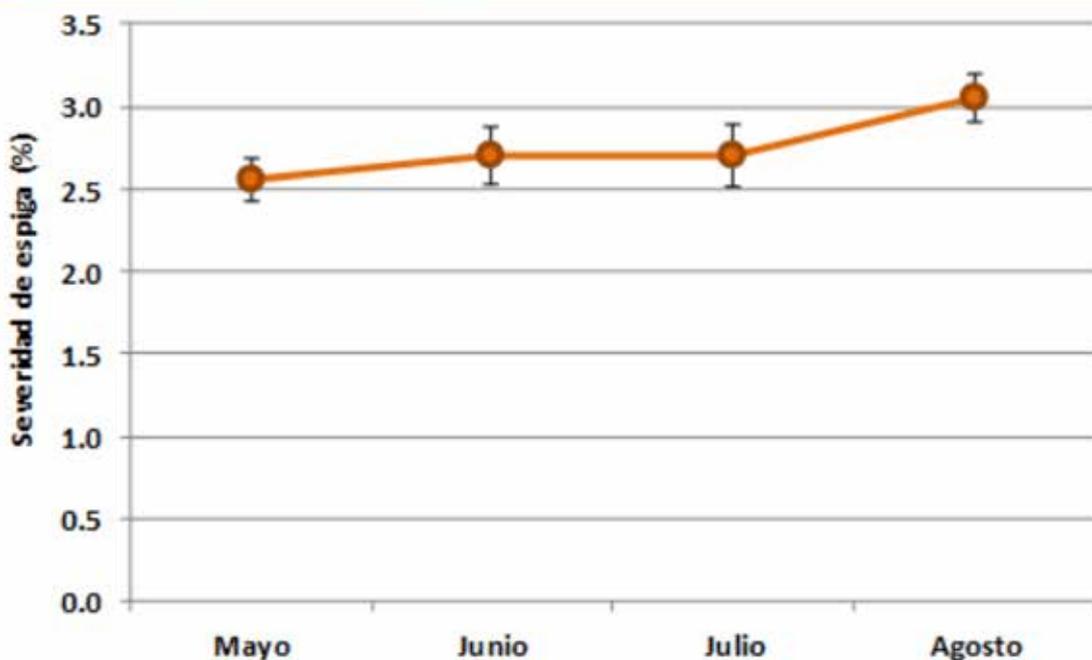
Severidad de enfermedades de espigas

Las espigas muestreadas presentaron un grado entre 1-3 de infección, según la escala propuesta por Reid *et al.*, 1996. Posteriormente, los valores numéricos de severidad de síntomas fueron reconvertidos a porcentajes de área afectada utilizando el punto medio del intervalo (Campbell y Madden, 1990).

La severidad de la espiga, expresada en porcentaje (%) se muestra en la Figura 1. No hubo diferencias significativas entre los muestreos realizados de mayo a julio. Sin embargo, sí se encontraron diferencias significativas entre la severidad de espiga del mes de agosto y la del mes de mayo.

F1

Figura 1. Porcentaje de área afectada de espiga.





T1

Tabla 1. Presencia de las distintas especies de hongos en las distintas fechas de evaluación.

Especie / Muestra	<i>Fusarium proliferatum</i>	<i>Fusarium subglutinans</i>	<i>Fusarium verticilloides</i>	<i>Fusarium graminearum</i>	<i>Penicilium</i>	<i>Alternaria</i>
MAYO	***	***	***	*	*	*
JUNIO	***	***	***	**	*	-
JULIO	**	**	**	**	*	**
AGOSTO	**	**	*	***	*	-

Escala: *** Todas las muestras **Mayoría de muestras *Al menos una muestra - Ausencia

Identificación de patógenos

En el blotter test se pudo observar que la totalidad de semillas desarrollaron algún tipo de micelio fúngico. Mediante lupa, cámara de video y microscopio se determinó la presencia de *Penicilium*, *Alternaria* y el género *Fusarium* (Figuras 2, 3 y 5). Mediante la observación en el microscopio de preparados provenientes de las placas, se pudo identificar estructuras compatibles con lo descrito para las especies de *F. verticilloide*, *F. subglutinans*, *F. Graminearum* y *F. proliferatum* en la guía de identificación de Nelson *et al.*, 1983. En la Tabla 1, se informa la identificación positiva de cada especie en las muestras evaluadas de cada muestreo.

Fumonisinás totales y DON

En la Tabla 2 se detallan los valores de Fumonisinás totales y DON para las muestras analizadas en el trabajo, y se incluye un muestreo previo del mes de abril. Comparado con otras campañas analizadas en la misma Estación Experimental, no se observaron valores alarmantes de fumonisinás totales ni de DON. Todas las muestras se encontraron en el rango de recomendación de la FDA de Estados Unidos (Ver al Pie de Tabla 2) para garantizar la inocuidad del grano. Sin embargo, en cuanto a DON, todas las muestras estuvieron por encima de los 0.2 ppm que la Unión Europea exige para elaboración de alimentos para infantes y niños, y solo la muestra del mes de junio se ubicó por debajo del umbral de 1,75 ppm que se recomienda para cereal no procesado.

T2

Tabla 2. Valores encontrados de fumonisinás total y vomitoxina (DON) en espigas de maíz tardío durante el secado a campo.

Muestra	Fumonisinás totales (ppm)	Vomitoxina DON (ppm)
ABRIL	< 0.2	1.97
MAYO	0.86	2.62
JUNIO	1.1	1.48
JULIO	< 0.2	3.66
AGOSTO	1.4	2.9
Rango FDA	5 - 50 ppm	1 - 5 ppm

Discusión y conclusiones

La metodología utilizada permitió detectar la presencia e identificar los hongos de espiga en maíz tardío durante el secado a campo. Los niveles de severidad de espiga fueron menores a los esperados a priori por tratarse de un híbrido caracterizado como susceptible, por lo que es posible que el nivel de inóculo a campo o las condiciones ambientales hayan limitado el crecimiento del micelio en la espiga. Adicionalmente, los valores encontrados de micotoxinas en grano fueron menores a los citados para un mismo nivel de severidad de espiga en trabajos similares con inóculo natural (Presello *et al.*, 2004) (Presello *et al.*, 2016) (Ferraguti *et al.*, 2016). No obstante, existió un correlato entre las especies identificadas del género *Fusarium*, la detección ulterior de fumonisinás y DON.

Si bien la mayoría de los resultados encontrados están en línea con la bibliografía existente (Presello



et al., 2004) (Martínez *et al.*, 2010) (Ferraguti *et al.*, 2018), se debe tener en cuenta que corresponden a solo una campaña analizada en una misma localidad, para un solo híbrido susceptible, por lo que deben interpretarse con cautela. Sería de gran interés sumar diversidad de ambientes experimentales e incluir un set de genotipos más variados para determinar relaciones entre severidad, especies presentes y micotoxinas.

Bibliografía

- Campbell C.L. and Madden L.V. 1990. Introduction to plant epidemiology. Wiley-Interscience. New York. 532 pp.

- De Rossi R.L., Guerra F.A., Brucher E., Torrico A.K., Maurino M.F., Leucini E., Gimenez Pecci M.P., Plaza M.C., Guerra G.D., Camiletti B.X., Ferrer M. y Laguna I.G. 2017. Capítulo 9: Enfermedades del maíz de siembra tardía causada por hongos. En: El mismo maíz, un nuevo desafío: Compendio primer congreso de maíz tardío. Borrás, L. y Uhart, S. (Eds). 1a edición compendiada. - San Isidro: Dow Agrosiences. Argentina. 250 p. ISBN 978-987-98384-3-3.

- Ferraguti F., Malmantile A., Andriani J., Sanmarti N., Castellarán J., Almada G., Calcha J., Capurro J., Cencig G., Condorí A., De Emilio M., Dickie M. J., Gentili O., Gerster, G., Guerra S., Kern E., Martins L., Mendez J.M., Pagani R., Prieto G., Varisco I. & Vita E. 2016. Resultados obtenidos por la red de maíz de segunda centro-sur de Santa Fe. Campaña 2014/15. Para mejorar la producción Cultivos estivales 54:17-26. <http://inta.gov.ar/documentos/rendimiento-y-estabilidad-de-hibridos-de-maiz-analisis-de-los-resultados-de-la-red-de-maiz-de-primera-y-de-segunda-centro-sur-de-santa-fe-campana-2014-15>.

- Ferraguti F., Castellarán J.M., Papa J.C., Mendez J.M., Cristos D., Moschini, R. 2016. Determinación del momento óptimo de cosecha en maíz tardío. Evolución del rendimiento, calidad e inocuidad de granos durante el secado a campo. Red de Innovadores Revista técnica de maíz Edición 2016 de AApresid. ISSN 1850-1559: 110-118.

- Ferraguti F. 2018. Actas del XXVI Congreso de AApresid Sustentología. http://congresoaaapresid.org.ar/uploads/actas_d62d36157052cd2de782f6602ab62dfc.%20Calidad%20comercial%20e%20inocuidad%20de%20ma%C3%ADces%20de%20fecha%20tard%C3%ADa.

- Glenn A.E. 2007. Mycotoxigenic *Fusarium* species in animal feed. Animal Feed Science and Technology, 137: 213-240.

- Maddonni G.A. 2012. Analysis of the climatic constraints to maize production in the current agricultural region of Argentina-a probabilistic approach. Theoretical and Applied Climatology, 107 3-4: 325-345.

- Martínez M., Moschini R., Barreto D., Bodega J., Forjan H., Piatti F., Presello D., Valentinuz O. 2010. Factores ambientales que afectan el contenido de fumonisina en granos de maíz. Tropical Plant Pathology 35: 277-284.

- Martínez M. y Moschini R. 2014. Riesgo climático de la región pampeana argentina con respecto a la contaminación con fumonisina en grano de maíz <http://inta.gov.ar/documentos/riesgo-climatico-de-la-region-pampeana-argentina-con-respecto-a-la-contaminacion-con-fumonisina-en-grano-de-maiz>.

- Moschini R., Borsarelli M., Martínez M.I., Presello D.A., Ferraguti F., Cristos D. y Rojas D. 2018. Analysis of preharvest meteorological conditions in relation to concentration of fumonisins in maize. European Journal of Plant Pathology (In press).

- Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O. 1983. *Fusarium* species: An illustrated manual for identification. Pennsylvania, USA: Pennsylvania State University Press.

- Paterson R.R.M., Lima N. 2010. How will climate change affect mycotoxins in food? Food Research International. doi:10.1016/j.foodres.2009.07.010.

- Presello D.A., Reid L.M., Mather D.E. 2004. Resistance of Argentine maize germoplasm to *Gibberella* and *Fusarium* ear rot. Maydica 49: 83-91.

- Presello D., Fernández M. y Oviedo S. 2015. Resistencia a las podredumbres de espiga causadas por *Fusarium* en cultivares de maíz. Folleto del PNCYO-1127023. http://www.inti.gov.ar/villaregina/pdf/Proy_ResPodredumbresEspiga.pdf.

- Presello D.A., Oviedo M.S., Fernández M., Iglesias J., Copia P. 2016. Resistencia a podredumbres de espiga y acumulación de micotoxinas en maíz. Revista RTA 10 (32):29-32. https://inta.gov.ar/sites/default/files/inta_pergamino_resistencia_a_podredumbres_de_espiga_y_acumulacion_de_mixotoxinas_en_maiz.pdf Consultada el 12 de abril de 2019.

- Reid L.M., Hamilton R.I. and Mather D.E. 1996. Screening maize for resistance to *Gibberella* ear rot. Agriculture and Agri-Food Canada, Ottawa, ON. Tech. Bull.

- Scandiani M.M. y Luque A.G. 2009. Manual: identificación de patógenos en semilla de soja. Suplemento especial N° 2. Análisis de Semillas. 148 pp.