

SELECCIÓN DE *ASPERGILLUS* SECCIÓN *FLAVI* COMO AGENTES DE BIOCONTROL DE HONGOS AFLATOXICOGÉNICOS EN MANÍ

Barros, G; Torres, A. & Chulze, S.

Universidad Nacional de Río Cuarto. Facultad de Ciencias exactas Físico químicas y Naturales. Departamento de Microbiología e Inmunología. Ruta 36 Km 601. Río Cuarto. Córdoba. (schulze@exa.unrc.edu.ar)

Introducción

La presencia de aflatoxinas y ácido ciclopiazónico (ACP) en el maní, es de relevancia en el sistema agroalimentario por problemas sanitarios y comerciales. Las aflatoxinas son sintetizadas por tres especies de *Aspergillus* de la sección *Flavi*: *A. flavus*, *A. parasiticus* y *A. nomius*, mientras que el ACP es producido por *A. flavus*. Dichas especies son saprofitos y la fuente potencial de inóculo en el campo son los esclerocios, estructuras de resistencia que hacen que el hongo permanezca en el ecosistema del suelo de un ciclo del cultivo al siguiente. De acuerdo a la producción de esclerocios las cepas pueden ser clasificadas como: no productoras, cepas denominadas S (esclerocios pequeños, <400µm y numerosos) y cepas denominadas L (esclerocios >400µm y escasos). La caracterización de los esclerocios es de importancia ya que existe una relación entre el tipo de esclerocio y la producción de micotoxinas. Aunque los hongos productores de aflatoxinas no tienen un estadio sexual conocido, existe una considerable variabilidad genética entre los mismos, la cual puede ser analizada a través del estudio de los llamados grupos de compatibilidad vegetativa (GCV_s). Dicho análisis permite evaluar la diversidad genética de una población fúngica. Una estrategia de biocontrol que comenzó a utilizarse en EE.UU y Australia en maní con el objeto de reducir los niveles de aflatoxinas, es la exclusión competitiva de las cepas aflatoxicogénicas adicionando cepas de *A. flavus* no toxicogénicas al suelo. Se ha postulado que las interacciones entre individuos vegetativamente compatibles son cooperativas desde el punto de vista de la anastomosis hifal. De esta manera, una cepa biocontroladora debería cumplir con el requisito de ser de un GCV diferente a los GCV_s de las cepas aflatoxicogénicas nativas.

Objetivos

1- Evaluar la producción de esclerocios, aflatoxinas y ACP en las poblaciones de *Aspergillus* sección *Flavi* de la región manisera. 2- Seleccionar a través del análisis de los GCV_s, cepas de *A. flavus* no productoras de aflatoxinas y ACP aisladas genéticamente del resto de la población fúngica.

Resultados

Se analizaron 509 cepas de *Aspergillus* pertenecientes a la sección *Flavi* aisladas de suelo de maní. En las cepas de *A. parasiticus* aisladas de suelo (n=137), el porcentaje de cepas productoras de esclerocios fue 24%. Con respecto a la producción de aflatoxinas, 133 cepas (97%) lo hicieron en niveles que superaron los 10 µg/ml. Esto demuestra que la producción de aflatoxinas está altamente conservada en esta especie y que casi la totalidad de las cepas son altamente productoras. Del total de cepas de *A. flavus* aisladas de suelo (n=369), el 59% resultaron cepas L (n=218), 22% cepas S (n=81) y el 19% cepas no productoras de esclerocios (n=70). De las cepas S, el 95% produjo aflatoxinas en niveles superiores a los 20 µg/ml. En las cepas L aisladas, el 79% produjo niveles de aflatoxinas que no superaron 1 µg/ml. Con respecto a las cepas no productoras de esclerocios, el 86% no produjo niveles superiores a 1 µg/ml. Del análisis de la capacidad aflatoxicogénica en *A. flavus* se observó que el potencial toxicogénico de mayor a menor es: cepas S > cepas L > cepas no productoras de esclerocios. La distribución diferencial de cepas S con diferente toxigenicidad indica divergencia geográfica. Todas las cepas S aisladas de Norte América producen sólo aflatoxinas del grupo B (B₁ y B₂), mientras que cepas aisladas de África, Tailandia y Australia producen además aflatoxinas del grupo G (G₁ y G₂) y son las denominadas cepas S_{BG}. Dentro de las cepas S de *A. flavus* aisladas un 10% de las mismas fueron caracterizadas como cepas S_{BG} por producir tanto aflatoxinas B como G, siempre en niveles que superaron los 10 µg/ml. Este es el primer informe de cepas atípicas de *A. flavus* aisladas de suelo cultivado con maní en Argentina. Con respecto a la producción de ACP, del total de cepas S aisladas (n=81) sólo en 5 de ellas no se detectó niveles de producción (6%), mientras que el resto de las cepas S produjeron niveles superiores a 10 µg/ml. Con respecto a las cepas L (n=218), el 7% de las mismas no produjeron niveles detectables de ACP, mientras que un 82% produjo niveles superiores a 10 µg/ml. De las cepas de *A. flavus* no productoras de esclerocios (n=70) el 10% no produjo niveles detectables de ACP, mientras que casi el 70% restante de las cepas produjo niveles superiores a los 10 µg/ml. En el caso del ACP, las cepas no productoras de esclerocios hacen un aporte importante a la toxigenicidad total de la población de *A. flavus*. El potencial toxicogénico para ACP fue: cepas L > cepas S > cepas no productoras de esclerocios. Todas las cepas de *A. flavus* atípicas (S_{BG}) produjeron ACP en niveles elevados.

Para el análisis de los GCV_s se utilizaron 50 cepas de *A. flavus* elegidas al azar. Los ensayos de complementación revelaron la presencia de 31 GCV_s, de los cuales 9 estuvieron constituidos por dos o más cepas, dichos grupos se designaron desde el C1 hasta el C9. Los 22 GCV_s restantes estuvieron formados por cepas individuales, aislados autocompatibles. De dichos grupos, 10 estuvieron formados por cepas de suelo, del GCV 10 al C19, y 13 constituidos por cepas aisladas de granos, del GCV C20 al C33. Se encontró una cepa perteneciente al GCV C30 que no produjo aflatoxinas ni ACP y además perteneció a un

GCV único. Esto hace que no pueda intercambiar material genético a campo con otras cepas toxicogénicas nativas y pueda ser utilizada en futuros ensayos de biocontrol.

Conclusiones

- Este es el primer informe de aislamiento de cepas de *A. flavus* atípicas, productoras de aflatoxinas del grupo B y G (cepas S_{BG}) en maní en Argentina.
- Sólo 4 cepas, de las 509 analizadas no produjeron aflatoxinas ni ácido ciclopiazónico.
- En el análisis de los grupos de compatibilidad vegetativa, se encontró una cepa no toxicogénica de un GCV único que va a ser utilizada en futuros ensayos de biocontrol.