Introducción General

INTRODUCCIÓN GENERAL

Fusariosis de la Espiga de Trigo

La Fusariosis de la espiga de trigo (FET) es una compleja enfermedad fúngica que afecta tanto al rendimiento y calidad de la producción granaria como a la salud por acción de la micotoxina asociada. La FET se ha expandido y re-emergido intensamente en los últimos años en muchas regiones del mundo debido a la fuerte adopción de sistemas de labranza mínima y siembra directa, rotaciones cortas con maíz y el cambio y variabilidad climática global (McMullen *et al*., 1997).

Fusarium graminearum (Schwabe), *F. culmorum*, *F. avenaceum* y *F. poae* son los principales agentes causales de la Fusariosis de la espiga de trigo (FET) en las regiones húmedas y semi-húmedas en todo el mundo (Parry *et al.,* 1995). *F. graminearum* prevalece en las regiones de Asia, América del Norte y del Sur y Europa, mientras que en regiones templadas, *F. culmorum* es más común (Parry *et al*., 1995). La distribución y predominancia de estos patógenos está determinado en gran parte por factores climáticos como la temperatura y la humedad.

En Argentina, el agente fúngico dominante asociado a la FET es *F. graminearum* (Schwabe) anamorfo de *Gibberella zeae* (Schw.) Petch. (Galich and Galich 1996; Kikot *et al.,* 2011). El Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMyT) ha identificado a la FET como el principal factor limitante de la producción de trigo en muchas regiones del mundo (Bai and Shaner, 1994; Xu, 2003). Diferentes análisis filogenéticos han demostrado la existencia de un alto grado de diversidad dentro de esta especie (O´Donnell *et al*., 2004; Monds *et al*., 2005), lo cual junto con las condiciones ambientales regionales presentes, evidencian un diferencial comportamiento ante la posibilidad de infección.

En los últimos 25 años, ha habido brotes de FET en los EEUU, Canadá, Sudamérica, Asia y Europa (Parry *et al*., 1995, McMullen *et al*., 1997). Las pérdidas económicas debidas a epidemias por Fusariosis de la espiga pueden resultar elevadas. En Manitoba (Canadá) anualmente, se registran pérdidas que alcanzan los US$ 50 a 100 millones (Broatch, 2002). Por su parte en EEUU durante los años 90 ocurrieron epidemias severas en varios estados que dejaron importantes pérdidas económicas debidas a reducción del rendimiento y cambios en la calidad de los granos. Durante el año 1996, las pérdidas económicas totales estimadas en

los estados de Ohio, Indiana y Michigan como consecuencia de esta enfermedad sobre cultivos de trigo y cebada, llegaron a ser cercanos a US$ 200 millones (Mc. Mullen *et al*., 1997). En Uruguay, en 1977 se registraron importantes pérdidas de rendimiento en los cultivos de trigo, como consecuencia de la enfermedad que llegaron a ser superiores al 80% (Torres, 1989).

En Argentina las epidemias más severas ocurrieron en los años 1945, 1978, 1985, 1993 y 2001, con pérdidas de rendimiento de grano en trigo por encima del 20% en promedio (Galich, 2004). En el año 2007 la enfermedad revistió importancia en las provincias de Entre Ríos y Santa Fe, aunque los ataques registrados, incluso sobre cultivares que se mostraron susceptibles, no llegaron a provocar las pérdidas en rendimiento de anteriores epifítias (Formento, comunicación personal).

Los síntomas de la enfermedad van desde el aclaramiento hasta el secado de las espigas, alterándose parámetros de calidad de los granos. La enfermedad es el resultado de la acción individual o combinada de diferentes mecanismos de patogénesis, como la producción y liberación de enzimas extracelulares que degradan los principales constituyentes de la pared celular y permiten la colonización de los tejidos (Martínez *et al*., 1991; Alconada, 1993; Alconada and Martínez, 1994; 1996; Kikot *et al*., 2009; 2010). Entre las principales actividades enzimáticas implicadas en la degradación de la pared celular se encuentran las pectinasas, celulasas y hemicelulasas (De Lorenzo *et al*., 1997). A las pérdidas en rendimiento como consecuencia de la reducción del número, tamaño y peso de los granos (Bai *et al*., 2001; Snijders, 2004), se suma la capacidad de este patógeno para producir daños a nivel de calidad de los granos (Sologuk, 2005). El daño observado se debe tanto a las enzimas que degradan sus paredes celulares, sus sustancias de reserva, como a la presencia de micotoxinas. Los granos pierden valor comercial, al resultar alteradas sus proteínas, lípidos y otras reservas, lo cual disminuye su valor nutricional y digestibilidad. Como resultado de este daño, existe rechazo de la materia prima o productos elaborados por países importadores (Lazzari, 2000). Las enzimas proteolíticas o proteasas son las principales responsables de la pérdida de calidad de los granos, dado a los cambios cuali y cualitativos que producen a nivel proteico, lo cual modifica directamente la calidad panadera.

Los granos contaminados con micotoxinas son perjudiciales para animales y seres humanos. Las toxinas prevalentes son los tricotecenos deoxinivalenol (DON) y nivalenol (NIV), así como la zearalenona analógica estrógeno (ZEA) (Mesterházy

et al., 1999). Los tricotecenos son potentes inhibidores de proteínas eucariotas (Snijders and Krechting 1992), causando disminución de consumo de alimentos y aumento de peso en los animales no rumiantes, seguido de diarrea, vómitos, problemas reproductivos y hematológicos. La ingestión humana de los granos contaminados se asocia con aleucia tóxica alimentaria, náuseas, depresión del sistema inmunológico, necrosis de la piel y hemorragia de los pulmones y el tracto gastrointestinal (Beardall and Miller 1994).

Factores que favorecen el desarrollo de la enfermedad

En la naturaleza, la enfermedad es una función combinada o interacción simultánea entre un hospedador susceptible, un patógeno virulento y un ambiente favorable, con lo que se conforma el comúnmente llamado triángulo de la enfermedad. La intervención humana, al incorporar cultivos con sus prácticas de manejo y control, interacciona con estos componentes conformando un tetraedro (fig. 1). La epidemia, definida como el incremento temporal y espacial de la enfermedad, depende de factores interactivos del tetraedro epidémico. La severidad de la FET esta determinada por la abundancia de inóculo primario y las condiciones meteorológicas (duración de mojado y temperatura) durante y después de la antesis (Bai and Shaner 2004). En general se señala que la FET es una enfermedad de climas cálidos y húmedos. La temperatura óptima para la infección se sitúa entre los 20 y 30℃ (Andersen, 1948).

La enfermedad está asociada fuertemente al factor ambiental, lo que hace posible que el patosistema pueda ser modelado matemáticamente. Por ello, el desarrollo de sistemas de pronóstico de la FET es considerado clave para integrarlo al manejo de la enfermedad y ayudar a decidir los momentos adecuados del control químico o para predecir la intensidad de la FET.

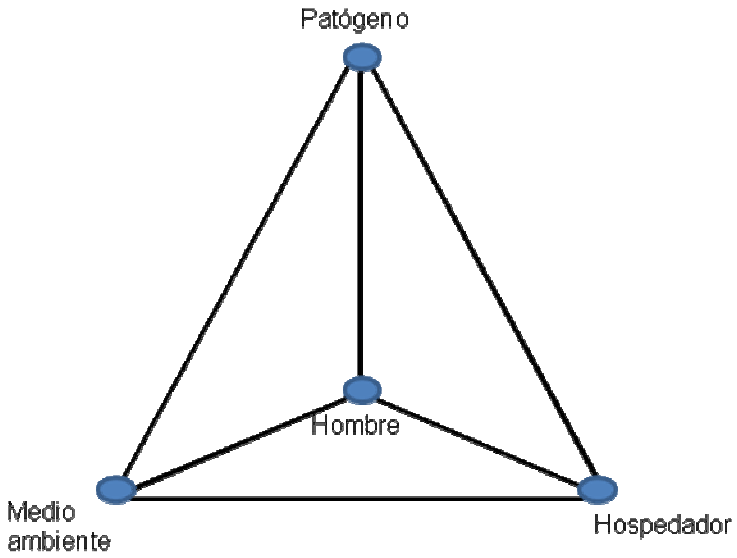

Fig. 1: Tetraedro de la enfermedad. Simboliza las interacciones entre hospedador, patógeno y medio ambiente. Sobre cada uno de ellos, el hombre tiene efectos, y de este modo sobre el desarrollo de las epidemias.

Ciclo patológico de la enfermedad

La FET es considerada una enfermedad floral y monocíclica, con una fase inicial parasítica en la cual el patógeno se desarrolla sobre tejidos colonizados funcionales y otra saprofítica sobre tejidos muertos (fig. 2). Reis y Carmona (2002) concluyeron que en la superficie de las plantas infectadas o en residuos de cosecha donde el hongo crece saprofíticamente se desarrollan los peritecios (fase sexual) y conidios (esporas asexuales), los cuales garantizan la disponibilidad de inóculo anual. Las ascosporas (esporas sexuales) se liberan de los peritecios en condiciones favorables de temperatura ambiente de 12 a 34℃ (preferentemente de 25℃) y a una humedad relativa mayor al 80% durante al menos 18 horas (Mc Mullen *et al.*, 1997). Las ascosporas pueden ser dispersadas por cientos de kilómetros con el viento. Los conidios se producen en masas viscosas llamadas esporodoquios (estructuras de hifas en forma de cojín). Los conidios pueden ser dispersados a corta distancia a través de salpicaduras de lluvia. Durante el corto período entre la floración y el inicio del desarrollo del grano (alrededor de 10 - 20 días), las plantas de trigo son muy susceptibles a infección por *Fusarium* spp., especialmente durante la presencia de anteras expuestas. Si las ascosporas o macroconidios logran ponerse en contacto con las espiguillas de trigo a través del viento o de salpicaduras de lluvia, el hongo entra en la fase de patógeno.

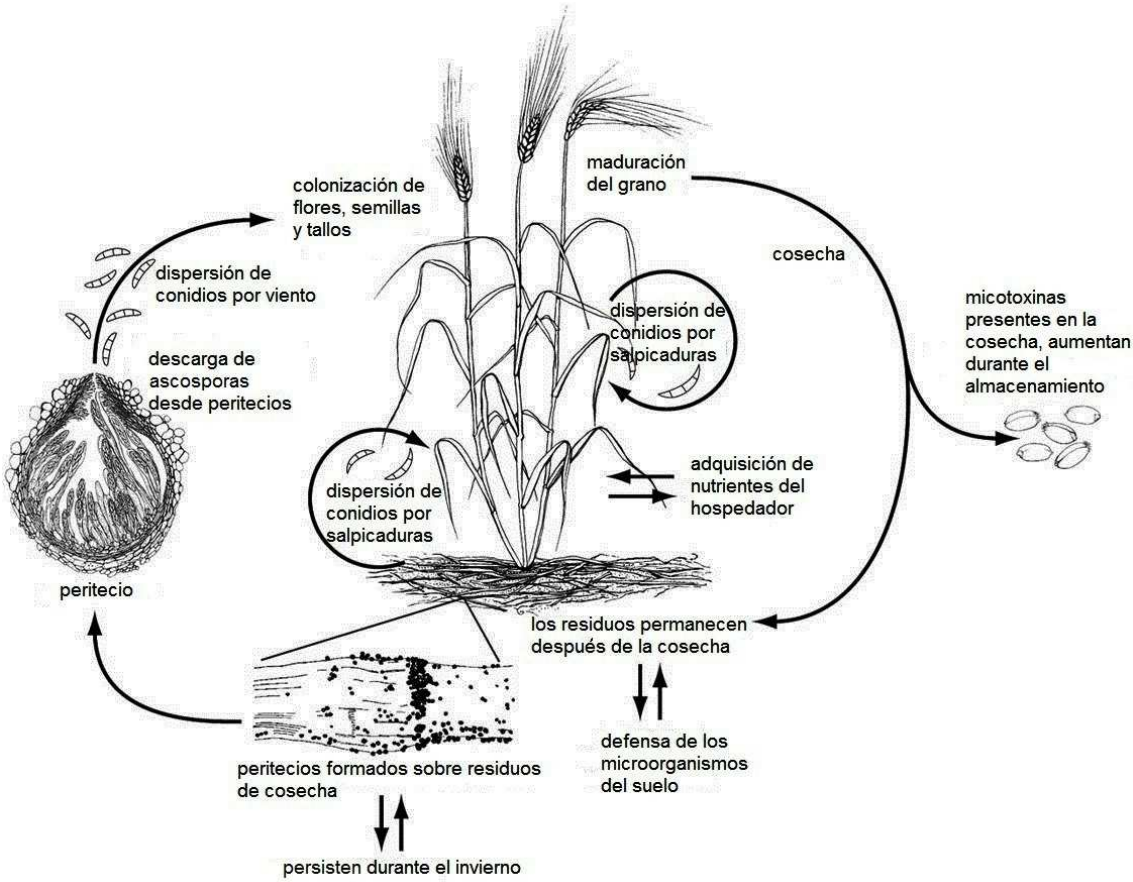

Fig. 2: Ciclo patológico de la Fusariosis de la espiga de trigo (Trail, 2009). La FET es considerada una enfermedad floral y monocíclica, con una fase inicial parasítica en la cual el patógeno se desarrolla sobre tejidos colonizados funcionales y otra saprofítica sobre tejidos muertos.

El modelo de colonización se basa en la entrada del patógeno a través de las anteras expuestas, seguido por la penetración del ovario y las infecciones sucesivas de las brácteas florales (Pritsch *et al.,* 2000). Las hifas se desarrollan en las superficies exteriores de flores y glumas, permitiendo al hongo crecer hacia los estomas y otros sitios sensibles de la inflorescencia (Bushnell *et al.*, 2003). Luego el hongo crece inter e intracelular en el ovario y las brácteas y se propaga de una espiguilla a las demás a través del raquis. La propagación de las hifas de los hongos durante las etapas posteriores de la infección, es acompañada por desintegración de los orgánulos de la célula huésped, la degeneración del citoplasma y el colapso de algunas células del parénquima (Wanjiru *et al*., 2002). Estos efectos drásticos se deben a la acción de las micotoxinas y las enzimas, las cuales juegan un papel importante en la patogenicidad.

Control integrado de la enfermedad

La complejidad de la FET y su amenaza multifacética, imponen el uso de múltiples e integradas estrategias de manejo de la enfermedad. Bai and Shaner (2004) consideran que la utilización de cultivares de trigo resistentes es crucial para reducir daños de la FET, en un enfoque integrado. El cultivar de origen chino Sumai 3 y sus derivados proveen actualmente el máximo grado de resistencia a la propagación de la enfermedad. A la fecha no están disponibles cultivares de trigo altamente resistentes a la enfermedad o tolerantes a las micotoxinas (Goswami and Kistler 2004). Este hecho se explica en la complejidad de la herencia de la resistencia, la pobre aptitud agronómica y la baja calidad de las principales fuentes de resistencia (Galich, 2004). La imposibilidad de un control adecuado de la FET por medio de la rotación de cultivos (control cultural) se fundamenta en la marcada ubicuidad de las especies del género *Fusarium*, su amplia gama de hospedantes y la alta diseminación anemófila de las esporas, que pueden ser transportadas desde fuentes distantes (Reis and Carmona 2002; Saharan *et al*., 2004). Schaafsma *et al*. (2001) en Ontario (Canadá) encontraron que sólo el 27% de la variación del contenido de la micotoxina DON ligada a *Fusarium* spp. se asoció a los cultivares, no habiendo detectado efectos por sistemas de labranza y tipo de fertilización nitrogenada (observaciones de 3 años en condiciones naturales de campo). En Argentina, Lori *et al*. (2009) concluyeron que las condiciones meteorológicas imperantes en 3 años sucesivos de ensayos de trigo fueron cruciales para explicar las variaciones en los niveles observados de la FET, comparado con el efecto de sistemas de labranza y otras prácticas agronómicas. En relación al control químico, Bai and Shaner (2004) sostienen que los fungicidas pueden ser útiles cuando las condiciones meteorológicas u otras asociadas a prácticas de cultivo son particularmente favorables para el desarrollo epidémico. Los fungicidas aplicados en antesis pueden ayudar a prevenir pérdidas económicas pero su eficacia depende del momento de aplicación y tecnología para lograr una buena cobertura de la espiga (Del Ponte *et al*., 2004). Las infecciones establecidas no pueden ser revertidas con los fungicidas actuales (principalmente bencimidazoles y triazoles o sus mezclas), razón por la cual, las aplicaciones deben realizarse en forma preventiva (antes que ocurran) o semi-preventivas (máximo 2 a 3 días posteriores al evento infectivo). En este último caso pueden darse limitaciones de “piso” para que

opere una máquina aplicadora terrestre, normalmente más eficiente que los tratamientos con aviones (Annone, 2003).

OBJETIVO GENERAL

La Fusariosis de la espiga de trigo (FET), enfermedad causada por varias especies de *Fusarium* y en Argentina predominantemente por *Fusarium graminearum*, provoca pérdidas importantes de rendimiento y de calidad tecnológica de los granos.

Se ha demostrado que la FET manifiesta una fuerte dependencia de la ocurrencia de condiciones térmica-hídricas favorables durante el período crítico para la infección (mientras el trigo tiene anteras expuestas). El cambio en la agresividad entre aislamientos de *F. graminearum* estaría en relación con la variabilidad genética presente en la especie. La infección modifica la integridad del trigo debido tanto a la producción de enzimas como de micotoxinas por parte del hongo. Por lo cual, como resultado de la infección se producen cambios en la estructura celular y en la composición de los hidratos de carbono, proteínas de reserva y gránulos de almidón del endosperma, así como la acumulación de productos tóxicos resultantes de la degradación enzimática y la acumulación de micotoxinas.

La presente investigación plantea estudiar la relación entre la presencia y abundancia de especies de *Fusarium* y la incidencia de la Fusariosis de la espiga de trigo estimada por modelos climáticos predictivos en la región pampeana, así como la agresividad de aislamientos de *F. graminearum* con diversidad genética sobre genotipos de trigo, en relación al progreso de la enfermedad y producción de actividades enzimáticas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aislar, caracterizar e identificar especies de *Fusarium* y determinar la diversidad genética intraespecífica de *F. graminearum* de granos de trigo provenientes de diversas localidades de la región pampeana a través de métodos convencionales, moleculares y fisicoquímicos.

- Evaluar la relación entre la presencia y abundancia de especies de *Fusarium* y la incidencia de la Fusariosis de la espiga de trigo estimada por modelos predictivos basados en variables meteorológicas, en la región pampeana.

- Analizar la variabilidad en la agresividad entre aislamientos de *F. graminearum* con diversidad genética sobre trigo en pruebas de patogenicidad en invernáculo.

- Detectar y caracterizar actividades enzimáticas relacionadas con los procesos de infección y pérdida de calidad de los granos en medios de cultivo.

- Purificar y caracterizar actividad/es enzimáticas seleccionadas por su magnitud y relevancia empleando cromatografía de alta eficiencia (FPLC).

- Evaluar el comportamiento a la enfermedad entre genotipos de trigo a campo a partir de pruebas de patogenicidad utilizando un aislamiento de *F. graminearum* seleccionado por su producción enzimática como estimativo de agresividad.

HIPOTESIS

La Fusariosis de la espiga de trigo (FET) es una de las principales limitantes para la producción de trigo en la región pampeana, afectando el rendimiento y la calidad de la producción de granos.

Especies de *Fusarium* dominantes encontradas en muestras de trigo de diferentes sitios de la región pampeana podrían relacionarse con niveles de incidencia de la FET estimados anualmente por modelos basados en variables meteorológicas.

Diferencias en la agresividad entre aislamientos de *F. graminearum* sobre trigo podrían asociarse con variabilidad genética intraespecífica, lo cual determinaría una diferencial capacidad en producir sistemas enzimáticos en relación con el éxito del establecimiento de la infección, y la consiguiente pérdida de calidad de los granos.

La profundización en el conocimiento de las especies de *Fusarium*, así como de la variabilidad intraespecífica de *F. graminearum* en granos de trigo y su capacidad en producir actividades enzimáticas, permitirá asociar al patógeno con los daños o deterioro producidos sobre cultivares y/o líneas de trigo.