



# Seamaíz

XI Congreso Nacional de Maíz

GENÉTICA Y MEJORAMIENTO  
GENÉTICO VEGETAL



## **EVALUACIÓN DE LÍNEAS ENDOCRIADAS DE MAÍZ FRENTE A PODREDUMBRES DE ESPIGA, CAUSADAS POR FUSARIUM SPP Y USTILAGO MAYDIS**

---

Montenegro, L.<sup>1</sup>; Buzzetti, G.<sup>1\*</sup>; Tesei, I.<sup>1\*</sup>; Zelada, V.<sup>1\*</sup>; Videla M. E.<sup>2-3</sup>; Kistner, B.<sup>3-4</sup>; Bruno, C.<sup>2</sup> e Iglesias J.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> UNNOBA,

<sup>2</sup> Cátedra de Estadística y Biometría. Facultad de Ciencias Agropecuarias (FCA). Universidad Nacional de Córdoba (UNC),

<sup>3</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), <sup>4</sup> Mejoramiento Genético de Maíz, EEA INTA Pergamino, Buenos Aires.

\*Todos contribuyeron igualmente a la realización del trabajo. E-mail: iglesias.juliana@inta.gob.ar

---

### **EVALUATION OF INBREED LINES AGAINST EAR ROT CAUSED BY FUSARIUM SPP AND USTILAGO MAYDIS**

#### **ABSTRACT**

Among the most frequent diseases that occur in maize, we can highlight the ear rot diseases caused by fungi such as *Fusarium verticillioides*, *F. graminearum* and *Ustilago maydis*, because of the great reduction in yield and grain quality they cause. *F. verticillioides* is a necrotrophic pathogenic fungus, while *F. graminearum* is a hemibiotrophic pathogenic fungus and *U. maydis* is a biotrophic pathogenic fungus. The objective of this work was to evaluate the severity of these ear rots in a group of 79 inbred lines in order to identify resistant genotypes. Fields trials were carried out in Pergamino, Buenos Aires. *U. maydis* (corn smut) incidence assessment was carried out under natural infection during 2016/17 and 2017/18. Ear rot caused by both species of *Fusarium* were evaluated under artificial infections during 2016/17. A wide repertoire of resistance was obtained by the PCA analysis. Group 1 included only three genotypes with broad resistance to the tested ear rot pathogens, group 2 showed genotypes with different degree of susceptibility and group 3 included genotypes low to moderately resistant. Next step is to combine this information presented here with data on resistance to other diseases. Further studies are needed to assist geneticists and breeders in developing broad-spectrum and durable resistance.

#### **Palabras Clave**

Podredumbres de espiga, Carbón común, *Fusarium*, Resistencia, Maíz.

#### **Key Words**

Ear rot, Corn smut, *Fusarium*, Resistance, Maize.



## INTRODUCCIÓN

Entre las enfermedades que se presentan con más regularidad en las espigas de maíz, se pueden mencionar las podredumbres causadas por hongos de los géneros *Fusarium* y *Ustilago*. Las especies del género *Fusarium spp.* son mayormente patógenos saprófitos (se alimentan de materia orgánica muerta o en descomposición) y producen varias toxinas en los tejidos y granos del maíz, disminuyendo su calidad y poniendo en riesgo la salud de los animales y las personas. *F. verticillioides* es un hongo necrótrofo, de alta prevalencia en maíz. Las fumonisinas (FBs: FB1, FB2, FB3), micotoxinas producidas por esta especie, parecen ser uno de los contaminantes alimentarios más comunes del maíz y derivados, son altamente tóxicas y se han asociado con varias patologías en vertebrados. Por todo esto existen regulaciones que limitan su presencia en los maíces para consumo. *F. verticillioides* coloniza los granos predominantemente a través de los estigmas, pero también puede hacerlo a través de heridas. Si bien existen resultados controvertidos, todo parece indicar que la FB1 es un factor de virulencia. La misma actúa inhibiendo la biosíntesis de *novo* de esfingolípidos desencadenando cascadas de señalización que derivan en muerte celular programada en los tejidos del hospedante, facilitando la supervivencia y progreso de este necrótrofo. Por otra parte, *F. graminearum* es un hongo hemibiótrofo que emprende la colonización del hospedante de manera biotrófica e intercelular y luego muta hacia una fase necrotrófica de mayor virulencia y agresividad. Sus toxinas, deoxivalenol (DON) y zeralenona (ZEA), son perjudiciales para los animales y humanos y su presencia también se encuentra regulada por distintos organismos de control tanto en maíz como en trigo. El DON le proporciona a este patógeno ventajas competitivas frente a otros microorganismos en su fase saprofitica, porque inhibe la síntesis proteica a nivel de ribosomas, y en su fase parasítica necrotrófica actúa como un factor de virulencia. De hecho el DON también interfiere con las defensas de la planta dependientes del ácido salicílico (AS). En este sentido, las defensas basadas en AS generalmente funcionan y son activas contra patógenos biotróficos/hemibiotróficos que necesitan células viables para sobrevivir. La vía opuesta implica mayormente

ácido jasmónico (AJ), que se activa especialmente durante la defensa de la planta contra necrótrofos. Muchas interacciones complejas tienen lugar entre las cascadas hormonales de respuesta de la planta ante los patógenos, pero el principal contrapunto ocurre entre biotrófos-AS y necrótrofos-AJ. La manipulación que hacen los patógenos de estas cascadas puede influenciar considerablemente la inmunidad de la planta y por eso reviste vital importancia analizar los estilos de vida patogénicos.

Por último, *Ustilago maydis* causa lo que se denomina como carbón común del maíz. Es un hongo biótrofo (parásito obligado que se nutre de las células vivas del hospedante) y es reconocido por la planta a través de sus PAMP (patrones moleculares del inglés "*pathogen associated molecular pattern*", defensas PTI). Su presencia impulsa defensas dependientes del AS en la planta, mientras que el hongo por su parte sintetiza citoquininas (CQ) y ácido abscísico (ABA) en los tejidos infectados. El carbón se identifica fácilmente por las agallas con aspecto de tumor que se forman en los tejidos en activo crecimiento (meristemáticos). Éstas contienen una masa oscura, pulverulenta de teliosporas (esporas del carbón). Las mismas se forman frecuentemente en las espigas femeninas y masculinas, tallos, nudos y hojas. Las agallas consisten en tejido fúngico, al principio blanco y luego gris oscuro-negro, a la madurez. El hongo sobrevive al invierno como teliosporas diploides en el rastrojo o sobre el suelo.

A la fecha no existen métodos de control químico que hayan probado ser efectivos en el control de estas enfermedades, tanto para las pérdidas de rendimiento como de calidad que ocasionan. Asimismo evitar la presencia de micotoxinas producidos por estos hongos en los granos es de fundamental importancia. En este contexto el desarrollo y uso de genotipos resistentes resulta el método más práctico y efectivo.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el comportamiento de un grupo de líneas endocriadas de maíz frente a carbón común y podredumbres de espiga causadas por *F. verticillioides* y *F. graminearum* con la finalidad de seleccionar genotipos

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 79 líneas endocriadas de maíz pertenecientes al grupo de mejoramiento de maíz de INTA Pergamino. El carbón de la espiga del maíz (*Ustilago maydis*-biótrofo) se evaluó bajo infección natural en Pergamino, Buenos Aires durante las campañas agrícolas 2016/17 y 2017/18. Los ensayos fueron sembrados en un diseño de bloques completamente aleatorizados, con dos repeticiones, las parcelas constaron de 2 surcos de 5 m separados por 0,7m y sembrados a una densidad de 5 pl/m. Los datos de incidencia de carbón se obtuvieron contabilizando la cantidad de plantas con síntomas sobre el número total de plantas de la parcela. Para el análisis de los datos se ajustó un modelo binomial Negativo inflado en cero (ZINB) (ver Videla *et al.*, en este congreso). Posteriormente se obtuvieron los BLUPs (del inglés *best linear unbiased prediction*) de los genotipos para ordenarlos de mayor a menor susceptibilidad.

Para evaluar las podredumbres de espiga causadas por *Fusarium spp.* se realizaron infecciones artificiales. El ensayo fue sembrado en la campaña 2016/17 bajo un diseño de parcelas divididas con dos repeticiones. El inóculo de *F. verticillioides* fue desarrollado en base al aislamiento monospórico P364 y el inóculo de *F. graminearum* a partir del monospó-

co IVII3, ambos de capacidad toxicogénica y agresividad conocida. El aislamiento P364 de *F. verticillioides* fue multiplicado en medio sólido APG (agar papa glucosado) durante un período de 7 días a una temperatura de 25°C y posteriormente diluido en agua destilada. *F. graminearum* fue cultivado en caldo de poroto mongo durante 4 días con agitación constante y una temperatura de 28 °C. Para la preparación del inóculo se llevó a cabo conteo de esporas utilizando la cámara de Neubauer y se ajustó la concentración final a  $1 \times 10^6$  conidios/ml para *F. verticillioides* y  $2,5 \times 10^5$  macroconidios /ml para *F. graminearum*. La inoculación fue llevada a cabo mediante jeringa automática a razón de 2 ml de las suspensiones conidiales en el canal de los estigmas. El momento de inoculación fue aproximadamente a los 6 días después de la emergencia de estigmas. La evaluación de la severidad de síntomas se estimó en base a un ranking del porcentaje del área de la espiga afectada donde: 1 = sin síntomas; 2 = 1-3%; 3 = 4-10%; 4 = 11-25%; 5 = 26-50%; 6 = 51-75%; y, 7 = 76-100%. Con el fin de agrupar los genotipos en base a su similitud se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP), considerando todas los tres patógenos considerados. El análisis estadístico se realizó con el software InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2017).

## RESULTADOS

Los patrones de agrupamiento de los genotipos en función de las enfermedades evaluadas se presentan a través de un ACP (Gráfico 1). Los vectores representan los tres patógenos considerados y los puntos representan los 79 genotipos. El ACP explica un 90% de la variabilidad total observada. La CP1 (59.7%) permite discriminar a las líneas por el nivel de resistencia/susceptibilidad desplegada frente a las podredumbres de espiga. Hacia la izquierda se ubican los genotipos de resistencia alta y moderada (grupo 1 y grupo 3) mientras que hacia la derecha se ubican los más susceptibles (grupo 2). La CP2 (30,3 %) por su parte, permite discriminar entre los ge-

notipos que son susceptibles a uno u otro de los patógenos considerados. Hacia arriba genotipos susceptibles a carbón (subgrupo 2.1) y hacia abajo susceptibles a *Fusarium spp.* (subgrupo 2.3), en el medio (subgrupo 2.2) con genotipos susceptibles a los tres patógenos.

El grupo 1 está formado por las tres mejores líneas, las líneas LP521 (resistente a roya, susceptible a necrótrofos de hojas), LP2541 (susceptible a roya y bacteriosis causada por *Xanthomonas*, también en menor medida a otros necrótrofos foliares) y L4637 (esta última resistente a roya y *Fusarium spp.*, Ing. Presello com. pers.).

Dentro del grupo 2 el subgrupo 2.1 abarca líneas con distintos grados de susceptibilidad a carbón como LP579, LP1411, LP153, LP605, LP453, LP197, LP199, LP580, LP917, LP126 (las que se ubican hacia el centro del origen de los vectores se vieron menos afectadas). En el subgrupo 2.2 líneas que son susceptibles a ambas enfermedades entre las que se encuentra L4674 (testigo susceptible a *Fusarium* spp, Ing. Presello com. pers.) y las líneas LP611, LP125-R, LP818, LP1996 que por ejemplo evidenciaron un fuerte componente de resistencia ETI frente a roya (bió-

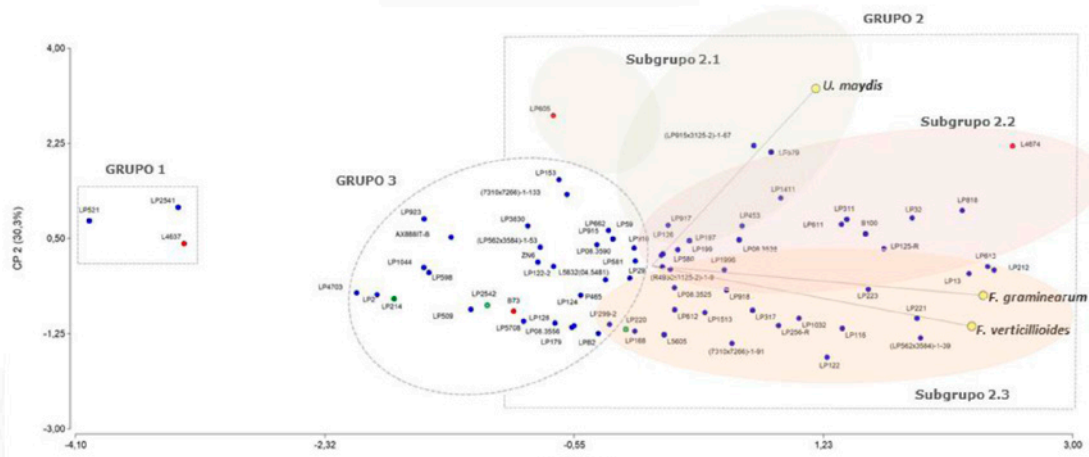
trofo) (ver Kistner *et al.*, 2018 en este congreso). En el subgrupo 2.3, líneas susceptibles a *Fusarium* spp, con algunos genotipos más susceptibles a uno u otro *Fusarium*. En este grupo se ubican las líneas LP223, LP221, LP613, LP13, LP212, LP116, LP122, LP256-R, LP1032, entre otras.

Por último en el grupo 3 se ubican todas aquellas líneas que no fueron susceptibles al carbón de la espiga pero que si mostraron cierto grado de susceptibilidad a *Fusarium* spp.

## CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos a partir de los agrupamientos de los genotipos permitieron evidenciar un amplio repertorio de resistencia para los agentes causales de podredumbres de espiga en maíz. Hubo genotipos de buen comportamiento ante el carbón, pero más mediocres en su comportamiento ante las fusariosis y viceversa. Si bien los tres patógenos afectan el mismo órgano, se pudo observar que el hecho de tener estilos de vida patogénicos diferentes tuvo su peso a la hora de detectar genotipos con resistencia amplia a las podredumbres (grupo 1). No ocurrió lo mismo con respecto a la susceptibilidad, ya que se pudo advertir la presencia de genotipos tan susceptibles al carbón común (biótrofo) como a los *Fusarium* testeados (hemibiótrofos/necrótrofo) en el subgrupo 2.2. Es de notar cómo en este subgrupo se ubicaron genotipos que en otros trabajos mostraron resistencia a roya (biótrofo foliar) y respuesta hipersensitiva (HR, un tipo de muerte celular programada). A priori era de esperarse que la resistencia a biótrofos observada frente a roya estuviera operativa frente al carbón, pero no fue así. Esto quizás sea debido a que, como indica Morrison *et al* (2015), los niveles de ABA y CQ generados por el propio tumor puede suponer una supresión de las defensas del hospedante vía AS contra los biótrofos, lo que torna al carbón exitoso en su progreso.

La interacción del maíz con sus patógenos es un sistema notablemente complejo que involucra múltiples niveles de defensa en múltiples tejidos. Nuestro próximo objetivo es poder obtener mayor información acerca de este comportamiento para mejorar la resistencia del maíz a podredumbres de espiga y combinar esta información con el comportamiento ante otras enfermedades. Futuros estudios son aún necesarios para ayudar a los genetistas y mejoradores a desarrollar genotipos de maíz resistentes a las podredumbres de espiga y otras enfermedades de importancia.



**Gráfico 1:** Biplot de las dos primeras componentes principales de líneas endocriadas de maíz (puntos) y patógenos causantes de podredumbre de espiga (vectores). Resultados de 3 ensayos realizados en Pergamino y Tucumán.

**Apoyo financiero:** PNCYO 1127043-INTA. Concejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

#### **Agradecimientos**

Los autores agradecen a los técnicos auxiliares del grupo de Mejoramiento de Maíz de la EEA INTA Pergamino y del IIACS, Santa Rosa de Leales por su participación en las actividades de campo. Adicionalmente se agradece al Laboratorio Regional de la EEA INTA Pergamino, a la Cátedra de Estadística y Biometría de la FCA, Universidad Nacional de Córdoba y a los alumnos M. S. Saccani y M. Giurich de UNNOBA.

#### **Referencias**

Morrison EN, Emery RJN, Saville BJ .2015. PLoS ONE 10(6):e0130945.