

BIODIVERSIDAD DE ESPECIES DE *FUSARIUM* EN TALLOS DE MAÍZ FORRAJERO EN GALICIA

M.J. SAINZ¹, O. AGUÍN², M.J. BANDE^{1,3}, C. PINTOS² Y J.P. MANSILLA²

¹Departamento de Producción Vegetal, Universidad de Santiago de Compostela, Campus Universitario s/n, 27002 Lugo (España). mj.sainz@usc.es. ²Estación Fitopatológica do Areeiro, Deputación de Pontevedra, Subida a la Robleda s/n, 36153 Pontevedra (España). olga.aguin@depo.es, cristina.pintos@depo.es, pedro.mansilla@depo.es. ³Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (CIAM), Instituto Galego de Calidade Alimentaria (INGACAL), Apartado 10, 15080 A Coruña (España). maribande@ciam.es

RESUMEN

En Galicia, el ensilado de maíz forrajero se utiliza extensamente en la alimentación del ganado vacuno, sobre todo en explotaciones de leche. Diversas especies del género *Fusarium* causan podredumbre de tallo y mazorca en cultivo de maíz, disminuyendo el rendimiento del cultivo y produciendo toxinas, que persisten en el forraje ensilado y pueden poner en riesgo el rendimiento, la fertilidad y la salud del ganado. El objetivo de este trabajo fue estudiar la ocurrencia natural de especies de *Fusarium* en tallos de maíz forrajero en Galicia, para conocer qué micotoxinas podrían estar presentes en el forraje ensilado. Se identificaron, mediante métodos morfológicos y moleculares, las especies de *Fusarium* presentes en 45 híbridos de maíz forrajero cultivados en la provincia de A Coruña bajo condiciones naturales de fuerte estrés por sequía. En el momento de corte para ensilado, se detectaron una o varias especies de *Fusarium* toxigénicas en todos los híbridos. Las especies de mayor prevalencia fueron *Fusarium graminearum*, que produce deoxinivalenol y zearalenona, y un *Fusarium* sp., que se encontraron en el 80% y 64,4% de las muestras, respectivamente.

Palabras clave: *Fusarium graminearum*, híbridos de maíz, micotoxinas, *Zea mays*.

INTRODUCCIÓN

En España, en 2010 se cultivaron 96 981 ha de maíz forrajero que dieron una producción de 4 235 808 t de forraje verde, de las que un 90,5% se ensilaron (MAGRAMA, 2012). La mayoría de la superficie cultivada (un 60%) y de la producción (un 77%) se localizó en las provincias de A Coruña (38 666 ha, 2 589 250 t) y Lugo (19 344 ha, 675 106 t), que concentran la mayoría de las explotaciones de vacuno de leche y de carne de Galicia. El ensilado de maíz forrajero es un componente fundamental de la ración, especialmente en las explotaciones de vacuno de leche de mayor tamaño, que presentan una mayor intensificación de la producción forrajera (Fernández-Lorenzo *et al.*, 2009).

En campo, antes del corte para ensilado, tanto el tallo como la mazorca del maíz pueden ser infectados por hongos patógenos del género *Fusarium*, que pueden causar pérdidas importantes de rendimiento y producir micotoxinas (Wu, 2007). Las toxinas más importantes son el deoxinivalenol (un tricoteceno de tipo B) y la zearalenona, producidas principalmente por *F. graminearum*, y las fumonisinas, que generan sobre todo *F. verticillioides* y *F. proliferatum* (Logrieco *et al.*, 2002a; Munkvold, 2003), pero cada vez se da más importancia a otras toxinas que aparecen en menor proporción, como la moniliformina, beauvericina, enantinas y fusaproliferina (Jestoi, 2008). Según sus características químicas, se distinguen tricotecenos de tipo A, como las toxinas T-2, HT-2, monoacetoxiscirpenol y diacetoxiscirpenol, y de tipo B, como el deoxinivalenol y el nivalenol y sus derivados mono y diacetilados (Bottalico, 1998).

El consumo por el ganado de piensos contaminados por micotoxinas puede tener como consecuencia una menor ingestión del alimento, menores ganancias de peso, mayor incidencia de enfermedades y disminución de la capacidad reproductiva (Binder *et al.*, 2007). El porcino es particularmente sensible a la toxicidad del deoxinivalenol, que determina una menor ingestión voluntaria de alimento, y de la zearalenona, que produce hiperestrogenismo y menor fertilidad (Döll y Dänicke, 2011). En general se considera que los rumiantes son más tolerantes a los tricotecenos y a la zearalenona, ya que la biota ruminal puede convertirlos en compuestos menos tóxicos, de manera que los residuos de estas toxinas en leche y carne no son de importancia para la salud pública (Fink-Gremmels, 2008). Algunos autores sugieren, sin embargo, que es necesaria más investigación en rumiantes, sobre todo en vacuno de leche, para averiguar los efectos de estas micotoxinas cuando son consumidas a dosis altas durante largos periodos de tiempo y en combinación con otras (Seeling y Dänicke, 2005).

Las fumonisinas más activas son las de la serie B, especialmente la FB1, que puede producir leucoencefalomalacia en caballos y alteraciones en la función hepática e inmune del ganado vacuno (Kellerman *et al.*, 1990).

Debido a sus efectos tóxicos en varias especies animales y a que aparecen muchas veces en concentraciones altas (con frecuencia a nivel de ppm), la Comisión de las Comunidades Europeas (2006) publicó una recomendación sobre la presencia de deoxinivalenol, zearalenona y fumonisinas en los productos destinados a la alimentación animal, estableciendo valores orientativos, determinados para la especie animal de mayor tolerancia, que no se deberían sobrepasar. En la Recomendación de la Comisión se señala la necesidad de recabar más datos, por ahora limitados, sobre la presencia de las toxinas H-2 y HT-2 en productos para alimentación animal, de forma que se puedan establecer valores orientativos en el futuro.

Por su importancia para la alimentación humana y animal, el estudio de la ocurrencia de hongos toxigénicos del género *Fusarium* se ha centrado en los granos del maíz. Hojas y tallos del cultivo de maíz han recibido menos atención, a pesar de que algunos estudios indican que están más infectadas por *Fusarium* spp. que los granos (Di Menna *et al.*, 1997). Este hecho es relevante respecto a la posible toxicidad del forraje fresco y especialmente del ensilado de maíz forrajero, ya que tanto los tricotecenos como la zearalenona y las fumonisinas son muy estables y persisten en el forraje ensilado aunque los propios hongos de *Fusarium* no sobrevivan al proceso de ensilaje (Mansfield y Kulda, 2007).

El conocimiento de las especies de *Fusarium* que pueden afectar al cultivo de maíz forrajero en cada zona geográfica es importante no solo para estudiar los niveles de interacción entre los patógenos de *Fusarium* y el maíz, sino para conocer los riesgos de contaminación del forraje, fresco o ensilado, por micotoxinas (Dorn *et al.*, 2009). El objetivo de este trabajo fue investigar la ocurrencia natural de especies de *Fusarium* productoras potenciales de micotoxinas en tallos de maíz forrajero cultivado para ensilado en Galicia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un ensayo en una finca de 0,3 ha de una explotación de vacuno de leche situada en Mazaricos (A Coruña, 42°56'42,0"N, 8°57'40,3"W). Se diseñó un experimento en bloques al azar con tres repeticiones para estudiar la incidencia e identificar las especies de *Fusarium* en tallos de 45 variedades de híbridos de maíz forrajero de ciclo corto.

En la primavera de 2011, tras el laboreo, se aplicaron 150 kg N/ha, 175 kg P₂O₅/ha y 250 kg K₂O/ha, que se incorporaron con una labor. Para prevenir gusanos grises y blancos, se hizo un tratamiento con clorpirifos (5%) y, para el control de vegetación espontánea, se aplicó un herbicida a base de acetocloro (45%) y terbutilazina (21,5%). El 18 de mayo de 2011, en cada bloque, se sembraron tres líneas de 4 m de longitud de

cada variedad. La distancia entre dos líneas consecutivas fue de 60 cm y la distancia entre semillas en la línea de 18,5 cm, para obtener una densidad de plantación de 90 000 plantas/ha.

Un mes después de la siembra, se inspeccionó todo el ensayo para detectar plantas con algún síntoma de enfermedad en hoja, recogiendo muestras de hojas con decoloración de cinco variedades. Trozos de estas hojas se dispusieron en cámara húmeda, sembrando además fragmentos de hoja en placas Petri con el medio de cultivo Komada, selectivo para especies de *Fusarium* (Komada, 1975), para forzar la esporulación de algunas especies fúngicas. Las placas se incubaron a 24 °C. Las colonias de *Fusarium* obtenidas se repicaron en medio PDA (Patata Dextrosa Agar), selectivo para hongos, para obtener cultivos monospóricos, que sirvieron de base para la identificación morfológica y molecular de especies.

El cinco de octubre de 2011, cuando el grano estaba en estado pastoso, en cada repetición, se cortaron tres plantas de la línea central de las 45 variedades de maíz, separando hojas y porción de tallo por debajo de la mazorca, que se llevaron al laboratorio para su procesamiento inmediato. Hojas y tallos presentaban manchas amarillentas y pardo-amarillentas, indicando la posible presencia de patógenos fúngicos. En el laboratorio, trozos de tallo situados a uno-dos cm de los nudos de cada variedad se sembraron en medio Komada. Los aislados obtenidos se sembraron en los medios SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar), recomendado para incrementar la esporulación en el cultivo de *Fusarium*, y PDA.

Las especies de *Fusarium* aisladas en ambos muestreos se identificaron observando características macroscópicas (forma y pigmentación del micelio, velocidad de crecimiento de las colonias) y microscópicas (presencia/ausencia y forma de macroconidios, microconidios y clamidosporas). La identificación morfológica se complementó con la identificación mediante métodos moleculares, realizando un estudio de la región ITS del rDNA y una parte de la secuencia del gen del factor de elongación 1 α (gen EF-1 α) de especies de *Fusarium*. Para ello, se extrajo ADN a partir de micelio en cultivo y se amplificó con los primers ITS1-ITS4 y EF1-EF2, siguiendo los métodos de White *et al.* (1990) y O'Donnell *et al.* (2000), respectivamente. Los productos amplificados se secuenciaron en un equipo ABI PRISM 3130, comparando las secuencias obtenidas con las depositadas en el GenBank (NCBI, 2012) y en la base de datos de *Fusarium* del Broad Institute (2011). La identificación molecular de una especie se aceptó cuando el porcentaje de identidad de secuencia fue superior al 98%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En todas las muestras de hojas sintomáticas tomadas un mes después de la siembra, se detectó la presencia de especies de *Fusarium* (Tabla 1). En una variedad se encontraron dos especies (*F. cerealis* y *F. oxysporum*) y en las otras cinco solo una: *F. graminearum*, *F. oxysporum* o *F. sporotrichioides*.

TABLA 1

Especies de *Fusarium* detectadas en híbridos de maíz cultivados en Mazaricos (A Coruña) un mes después de la siembra.

Table 1. Fusarium species detected in maize hybrids grown in Mazaricos (A Coruña) one month after seeding.

	Variedad de maíz híbrido				
	Mas 23.B	Mamilla	Stern	Gladi	Josquin
<i>Especies de Fusarium</i>	<i>F. cerealis</i> <i>F. oxysporum</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. sporotrichioides</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. sporotrichioides</i>

En el momento de cosecha, el 100% de las variedades de maíz presentaron tallos infectados por una o varias especies de *Fusarium*. Considerando todo el material analizado, se detectaron diez especies. Las de más prevalencia fueron *F. graminearum* y una especie (*Fusarium* sp.) cuya identificación está pendiente de confirmar (Tabla 2). En menor proporción se encontraron *F. oxysporum*, *F. cerealis*, *F. cortaderiae* y *F. subglutinans*, y en solo una o dos variedades de maíz *F. arthrosporioides*, *F. avenaceum*, *F. sporotrichioides* y *F. verticillioides*. La mayoría de estas especies no habían sido detectadas con anterioridad en maíz en Galicia. Otros autores han comunicado también una alta diversidad de especies del género en tallos de maíz. Dorn *et al.* (2009) encontraron 15 especies y Eckard *et al.* (2011) detectaron 12, lo que sugiere la existencia de interacciones interespecíficas.

La alta incidencia de *Fusarium* estuvo probablemente favorecida por las condiciones climatológicas del año de cultivo. Las plantas estuvieron sometidas a un fuerte estrés hídrico durante toda la fase vegetativa, con un balance hídrico (Precipitación – Evapotranspiración potencial según Pennman-Monteith) altamente negativo en mayo, junio y julio (-89 L/m², -121 L/m² y -91 L/m², respectivamente) (Figura 1). Hubo lluvias en agosto, durante la floración, que determinaron un balance de 17,2 L/m², pero en septiembre, durante la maduración del grano, hubo de nuevo condiciones de estrés con un balance hídrico de -27,5 L/m². Durante todos los meses de cultivo se registraron temperaturas máximas medias altas y mínimas medias bajas (Figura 2). Condiciones de sequía y alta temperatura, particularmente antes y durante la antesis, podrían favorecer la infección fúngica de la planta de maíz y la producción de micotoxinas, como observaron

Vincelli y Parker (2002) respecto a las fumonisinas. Recientemente Oldenburg y Schittenhelm (2012) han demostrado que el riesgo de contaminación por deoxinivalenol producido por *F. graminearum* en granos aumenta cuando el maíz se cultiva bajo condiciones de estrés hídrico prolongado.

TABLA 2

Especies de *Fusarium* detectadas y prevalencia de cada una en 45 híbridos de maíz cultivados en Mazaricos (A Coruña) en el momento de corte para ensilado. Se detallan las principales micotoxinas que puede producir cada especie (Logrieco *et al.*, 2003; Monds *et al.*, 2005; Jestoi, 2008).

Table 2. Fusarium species detected and prevalence of each in 45 maize hybrids grown in Mazaricos (A Coruña) at time of cutting for silage. Mycotoxins produced by each Fusarium species are provided (Logrieco et al., 2003; Monds et al., 2005; Jestoi, 2008).

Especies de <i>Fusarium</i>	Prevalencia (%)	Micotoxinas*
<i>F. graminearum</i>	80	DON, ZEA, NIV, FUS, AcDON, DAcDON, DAcNIV
<i>Fusarium</i> sp.	64,4	
<i>F. oxysporum</i>	17,8	MON, EN, BEA, FB, FUP
<i>F. cerealis</i> (= <i>F. crookwellense</i>)	15,6	NIV, FUS, ZEA, ZOH
<i>F. cortaderiae</i>	8,9	NIV
<i>F. subglutinans</i>	6,7	BEA, MON, FUP
<i>F. arthrosporioides</i>	4,4	MON, EN, BEA
<i>F. sporotrichioides</i>	4,4	T2, HT2, NEO, MAS, DAS, BEA, EN, MON, FUP
<i>F. avenaceum</i>	2,2	MON, EN, BEA
<i>F. verticillioides</i>	2,2	FB ₁ , FB ₂ , FB ₃ , FUP, BEA

* AcDON, mono-acetildeoxinivalenoles (3-AcDON, 15-AcDON); BEA, beauvericina; DAcNIV, diacetilnivalenol (4,15-AcNIV); DAS, diacetoxiscirpenol; DON, deoxinivalenol; EN, enantinas; FB1, fumonisina B1; FB2, fumonisina B2; FB3, fumonisina B3; FUP, fusaproliferina; FUS, fusarenona-X (= 4-acetil-NIV); HT2, toxina HT-2; MAS, monoacetoxiscirpenol; MON, moniliformina; NEO, neosolaniol; NIV, nivalenol; T2, toxina T-2; ZEA, zearelenona; ZOH, zearelenoles (isómeros α y β).

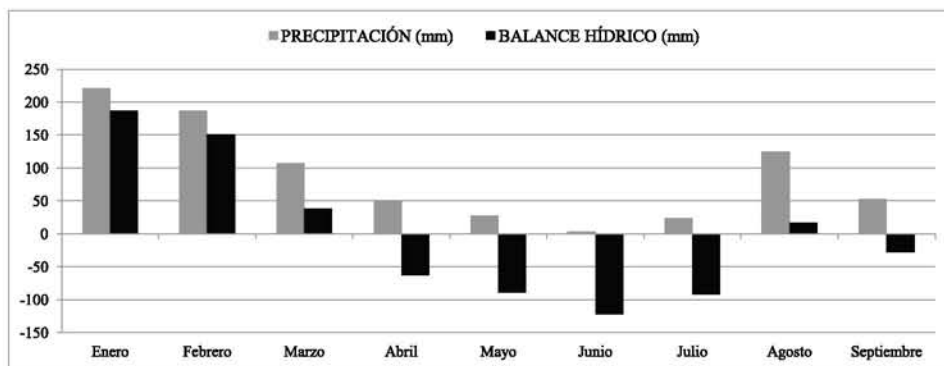


FIGURA 1

Datos de precipitación y balance hídrico durante los meses de cultivo, registrados en la estación de Fontecada (A Coruña), perteneciente a la red de estaciones automáticas de la Consellería de Medio Ambiente de la Xunta de Galicia.

Figure 1. Precipitation and water balance data during the months of cultivation, registered at the weather station in Fontecada (A Coruña), which belongs to the automated weather station network of the Consellería de Medio Ambiente of Xunta de Galicia.

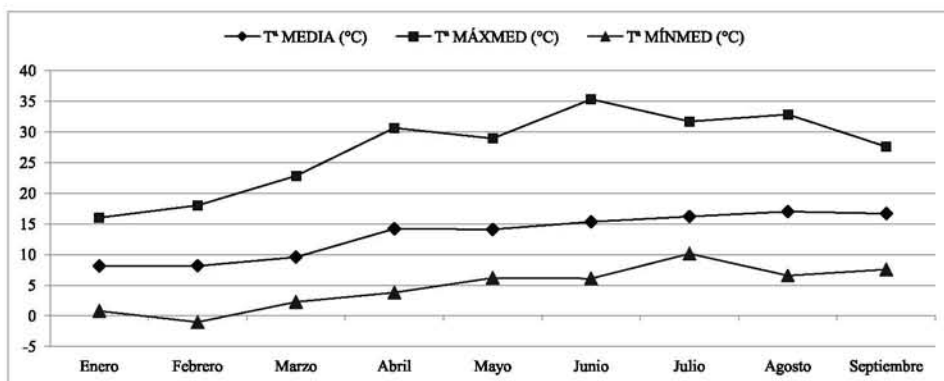


FIGURA 2

Datos de temperaturas medias, máximas medias y mínimas medias durante los meses de cultivo, registrados en la estación de Fontecada (A Coruña), perteneciente a la red de estaciones automáticas de la Consellería de Medio Ambiente de la Xunta de Galicia.

Figure 2. Average temperature and average maximum and minimum temperatures data during the months of cultivation, registered at the weather station in Fontecada (A Coruña), which belongs to the automated weather station network of the Consellería de Medio Ambiente of Xunta de Galicia.

La mayoría de las variedades estaban infectadas por *F. graminearum*, sola o junto a otras especies del género. *Fusarium graminearum* es una especie altamente patógena en maíz, responsable de importantes pérdidas económicas en muchas zonas de cultivo del mundo. Puede sobrevivir en restos de cosecha de maíz durante el invierno (Nyvall y Kommedahl, 1970; Glenn, 2007) y también puede colonizar tejidos senescentes de otra cosecha y de malas hierbas (Parry *et al.*, 1995).

Todas las especies identificadas son toxigénicas. *Fusarium graminearum* produce principalmente tricotecenos de tipo B, sobre todo deoxinivalenol, y zearalenona (Logrieco *et al.*, 2002a). Su alta prevalencia indica la posible presencia de estas micotoxinas en el forraje de la mayoría de las variedades estudiadas. Se ha demostrado que el nivel de deoxinivalenol y zearalenona está directamente correlacionado con la presencia de *F. graminearum* (Visentin *et al.*, 2010; Boutigny *et al.*, 2012), así como el de las fumonisinas con *F. verticillioides* y el de moniliformina y beauvericina con *F. subglutinans* (Boutigny *et al.*, 2012), ambas especies encontradas en este trabajo con muy baja prevalencia.

Fusarium oxysporum produce beauvericina, enantinas, fumonisinas, fusaproliferina y moniliformina (Leslie y Summerell, 2006; Dorn *et al.*, 2009), mientras que *F. cerealis* se ha encontrado frecuentemente asociada a la presencia de nivalenol y fusarenona-X, dos tricotecenos de estructura próxima al deoxinivalenol, en granos de maíz (Logrieco *et al.*, 2002a). La fusarenona-X es más tóxica que el nivalenol, y éste es más tóxico que el deoxinivalenol. En cuanto a las especies de menor prevalencia, *F. arthrosporioides* y *F. avenaceum* pueden producir moniliformina, beauvericina y enantinas (Golinski *et al.*, 1996; Logrieco *et al.*, 2002b) y *F. sporotrichioides* produce T-2 (Visentin *et al.*, 2010), una de las toxinas más potentes producidas por el género, beauvericina, enantinas, fusaproliferina y moniliformina (Dorn *et al.*, 2009).

En la mayoría de los tallos analizados, se encontraron dos o más especies de *Fusarium*. *Fusarium graminearum* se encontró asociado a *Fusarium* sp. en 22 variedades, y en un número mucho menor a *F. arthrosporioides*, *F. avenaceum*, *F. cerealis*, *F. cortaderiae*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichioides* y *F. subglutinans* (Figuras 3 y 4). En los tallos de seis variedades se detectaron tres especies: *F. graminearum* y *Fusarium* sp. asociadas a *F. avenaceum* (var. Marcello) o *F. oxysporum* (var. DK 315, Jennifer y Pesandor), y *F. cerealis* asociada a *F. cortaderiae* y *F. verticillioides* (var. Delli) o a *F. sp.* y *F. subglutinans* (var. LG 32.77). En los tallos de dos variedades se encontraron cuatro especies: *F. graminearum* y *Fusarium* sp. junto con *F. oxysporum* y *F. sporotrichioides* (var. Columbia) o con *F. cerealis* y *F. cortaderiae* (var. Phileaxx). En 9 variedades se encontró *Fusarium* sp. junto con una o dos especies más, pero no con *F. graminearum* (Figura 5).

<i>F. graminearum</i>	<i>F. sp.</i>	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. cerealis</i>	<i>F. cortaderiae</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. sporotrichioides</i>	<i>F. subglutinans</i>	Cultivares de maíz
								Amanatidis, Atlético, Automat, BC 244, Bora, DKC 4608, Josquin
								Altius, Anjou 456, Bonpi, Brandy, Castelli, DKC 4888, ES Sigma, Fortim, GW 001, Happy, Jumbo 48, LG 33.85, Mas 23.B , ZP 305, ZP 409
								DK 315, Jennifer, Pesandor
								Marcello
								Goldigest
								Phileaxx
								Columbia

FIGURA 3

Incidencia de *F. graminearum*, sola o con *Fusarium* sp. y otras especies de *Fusarium*, en variedades de maíz forrajero cultivadas en Galicia.

*Figure 3. Incidence of *F. graminearum*, alone or with *Fusarium* sp. and other *Fusarium* species, in forage maize cultivars grown in Galicia.*

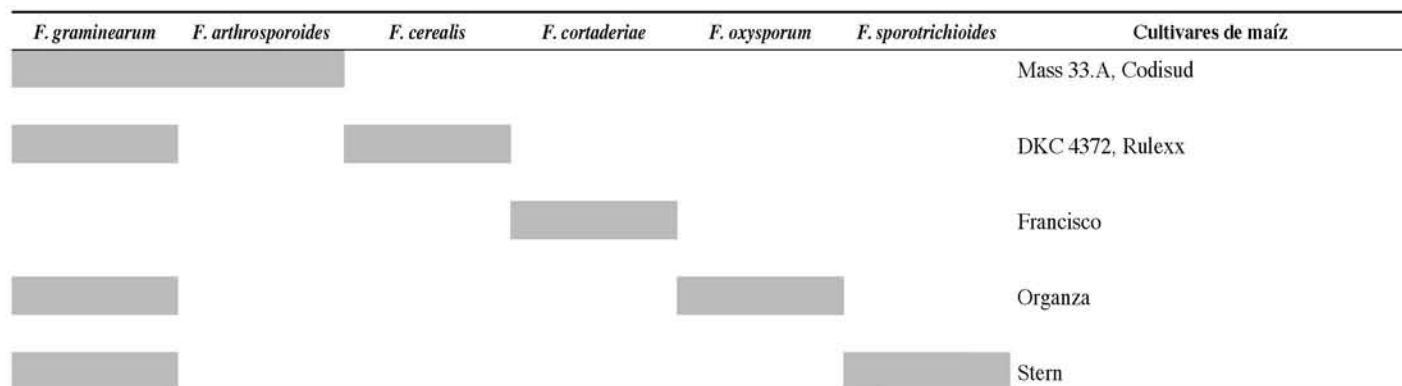


FIGURA 4

Incidencia de *F. graminearum* con especies de *Fusarium* distintas a *Fusarium* sp. en variedades de maíz forrajero cultivadas en Galicia.

*Figure 4. Incidence of *F. graminearum* with *Fusarium* species other than *Fusarium* sp. in forage maize cultivars grown in Galicia.*

<i>F. sp.</i>	<i>F. cerealis</i>	<i>F. cortaderiae</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. subglutinans</i>	<i>F. verticillioides</i>	Cultivares de maíz
						Ginko, LG 32.77
						Gladi
						Dixxmo, Manacor
						LG 32.76
						Es Fortress
						Delli
						Mamilla

FIGURA 5

Incidencia de *Fusarium* sp. con especies de *Fusarium* distintas a *F. graminearum* en variedades de maíz forrajero cultivadas en Galicia.

*Figure 5. Incidence of *Fusarium* sp. with *Fusarium* species other than *F. graminearum* in forage maize cultivars grown in Galicia.*

La presencia de varias especies toxigénicas de *Fusarium* en los tallos del maíz y el hecho de que cada una de las especies puede producir varias toxinas revela la posibilidad de que el forraje fresco o ensilado pueda presentar una combinación de micotoxinas, que podrían sumarse a las presentes en las mazorcas si éstas están también infectadas. La presencia de múltiples toxinas de *Fusarium* en maíz (incluyendo grano, harina y ensilado de maíz), sobre todo de deoxinivalenol y fumonisinas, en distintos países europeos está bien documentada (Griessler *et al.*, 2010). En un estudio reciente en cultivos de maíz forrajero para ensilado en 13 localidades del sur de Alemania, Schollenberger *et al.* (2012) encontraron que tanto los tricotecenos de tipo A como los de tipo B pueden estar presentes en todas las partes de las plantas de maíz (granos, mazorcas, espigas, tallos), si bien con una distribución desigual, llegando a detectar hasta 12 micotoxinas en una misma muestra. La concurrencia de múltiples toxinas de *Fusarium* con distintas características químicas y distintos modos de acción se considera un problema importante por sus posibles interacciones aditivas o sinérgicas en relación a sus efectos adversos en producción animal (Logrieco *et al.*, 2002a), investigación que debe abordarse en el futuro. Estos estudios son particularmente necesarios en Galicia para conocer la exposición del ganado vacuno a las micotoxinas producidas por *Fusarium*, especialmente en años en que el cultivo de maíz forrajero se vea sometido a estrés por sequía y/o temperatura y el desarrollo de los patógenos se vea favorecido.

La obtención de variedades de maíz resistentes al ataque de distintas especies de *Fusarium* toxigénicas parece la mejor opción para evitar la presencia de micotoxinas en el forraje para ensilado. En trabajos recientes, se han encontrado algunas diferencias de severidad entre algunos cultivares para la podredumbre de mazorca causada por *F. graminearum* (Löffler *et al.*, 2010), *F. verticillioides* (Clements *et al.*, 2004; Löffler *et al.*, 2010) y *F. proliferatum* (Robertson-Hoyt *et al.*, 2006). Sin embargo, en ciertas localidades, las condiciones climatológicas (sobre todo de estrés) la afectan enormemente, de manera que genotipos que muestran menor severidad en una localidad en otra están severamente afectados. Esto dificulta la posibilidad de hacer selección de cultivares por su resistencia a especies de *Fusarium* que causan podredumbre de mazorca. No hay estudios de resistencia de híbridos de maíz a la podredumbre del tallo causada por *Fusarium*.

CONCLUSIONES

La presencia de especies toxigénicas de *Fusarium* en tallos de 45 híbridos de maíz forrajero cultivados en la provincia de A Coruña, frecuentemente dos o más por tallo, indica que los ensilados podrían presentar varias micotoxinas, algunas muy tóxicas, que podrían no solo disminuir la producción de forraje sino tener efectos negativos en

la salud animal. La alta incidencia de *Fusarium graminearum* aconseja el análisis de micotoxinas, sobre todo deoxinivalenol y zearalenona, en ensilados de maíz forrajero en Galicia para garantizar que no superan los límites recomendados en alimentación animal por la Unión Europea. Estos análisis estarían especialmente recomendados en años en que las condiciones climatológicas favorezcan el desarrollo de los patógenos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Ana García Servia y a Carmela Menduñía Santomé su asistencia técnica en el procesado de muestras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BINDER E.M., TAN L.M., CHIN L.J., HANDL J. Y RICHARD A. (2007) Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients. *Animal Feed Science and Technology*, **137**, 265-282.
- BOTTALICO A. (1998) *Fusarium* diseases of cereals: Species complex and related mycotoxin profiles in Europe. *Journal of Plant Pathology*, **80**, 85-103.
- BOUTIGNY A.-L., BEUKES I., SMALL I., SÜHLKE S., SPITELLER M., VAN RENSBURG B.J., FLETT B. Y VILJOEN A. (2012) Quantitative detection of *Fusarium* pathogens and their mycotoxins in South African maize. *Plant Pathology*, **61**, 522-531.
- BROAD INSTITUTE (2011) *Fusarium* comparative database. En: http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/fusarium_group/MultiHome.html (último acceso: octubre 2012).
- CLEMENTS M.J., MARAGOS C.M., PATAKY J.K. Y WHITE D.G. (2004) Sources of resistance to fumonisin accumulation in grain and *Fusarium* ear and kernel rot of corn. *Phytopathology*, **94**, 251-260.
- COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS (2006) Recomendación de la Comisión de 17 de agosto de 2006 sobre la presencia de deoxinivalenol, zearalenona, ocratoxina A, toxinas T-2 and HT-2 y fumonisinas en productos destinados a la alimentación animal. *Diario oficial de la Unión Europea*, **L 229**, 7-9.
- DI MENNA M.E., LAUREN D.R. Y HARDACRE A. (1997) *Fusarium* and *Fusarium* toxins in New Zealand maize plants. *Mycopathologia*, **139**, 165-173.
- DÖLL S. Y DÄNICKE S. (2011) The *Fusarium* toxins deoxynivalenol (DON) and zearalone (ZON) in animal feeding. *Preventive Veterinary Medicine*, **102**, 132-145.
- DORN B., FORRER H.R., SCHÜRCH S. Y VOGELGSANG S. (2009) *Fusarium* species complex on maize in Switzerland: occurrence, prevalence, impact and mycotoxins in commercial hybrids under natural infection. *European Journal of Plant Pathology*, **125**, 51-61.
- ECKARD S., WETTSTEIN F.E., FORRER H.-R. Y VOGELSANG S. (2011) Incidence of *Fusarium* species and mycotoxins in silage maize. *Toxins*, **3**, 949-967.
- FERNÁNDEZ-LORENZO B., DAGNAC T., GONZÁLEZ-ARRÁEZ A., VALLADARES J., PEREIRA-CRESPO S. Y FLORES G. (2009). Sistema de producción de leche en Galicia. Evolución y estado actual. *Pastos*, **39**, 251-294.

- FINK-GREMMELS J. (2008) Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: A review. *Food Additives & Contaminants*, **25**, 172-180.
- GLENN A.E. (2007) Mycotoxigenic *Fusarium* species in animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, **137**, 213-240.
- GOLINSKI P, KOSTECKI M., LASOCKA L., WISNIEWSKA H., CHELKOWSKI J. Y KACZMAREK Z. (1996) Moniliformin accumulation and other effects of *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. on kernels of winter wheat cultivars. *Journal of Phytopathology*, **144**, 495-499.
- GRIESSLER K., RODRIGUES I., HANDL J. Y HOSFTETTER U. (2010) Occurrence of mycotoxins in Southern Europe. *World Mycotoxin Journal*, **3**, 301-309.
- JESTOI M. (2008) Emerging *Fusarium*-mycotoxins fusaproliferin, beauvericin, enniatins, and moniliformin - a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **48**, 21-49.
- KELLERMAN T.S., MARASAS W.F.O., THIEL P.G., GELDERBLOM W.C.A., CAWOOD M. Y COETZER J.A.W. (1990) Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of fumonisin B1. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, **57**, 269-275.
- KOMADA H. (1975) Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Review of Plant Protection Research*, **8**, 114-125.
- LESLIE J.F. Y SUMMERELL B.A. (2006) The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing, Hoboken, NJ, USA.
- LÖFFLER M., KESSEL B., OUZUNOVA M., Y MIEDANER T. (2010) Population parameters for resistance to *Fusarium graminearum* and *Fusarium verticillioides* ear rot among large sets of early, mid-late and late maturing European maize (*Zea mays* L.) inbred lines. *Theoretical and Applied Genetics*, **120**, 1053-1062.
- LOGRIECO A., MULÈ G., MORETTI A. Y BOTTALICO A. (2002a) Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. *European Journal of Plant Pathology*, **108**, 597-609.
- LOGRIECO A., RIZZO A., FERRACANE R. Y RITIENI A. (2002b) Occurrence of beauvericin and enniatins in wheat affected by *Fusarium avenaceum* head blight. *Applied and Environmental Microbiology*, **68**, 82-85.
- LOGRIECO A., BOTTALICO A., MULÈ G., MORETTI A. Y PERRONE G. (2003). Epidemiology of toxigenic fungi and their mycotoxins for some Mediterranean crops. *European Journal of Plant Pathology*, **109**, 645-667.
- MAGRAMA (2012) Anuario de Estadística 2011. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid (España).
- MANSFIELD M.A. Y KULDAU G.A. (2007) Microbiological and molecular determination of mycobiota in fresh and ensiled maize silage. *Mycologia*, **99**, 269-278.
- MONDS R.D., CROMEY M.G., LAUREN D.R., DI MENNA M. Y MARSHALL J. (2005) *Fusarium graminearum*, *F. cortaderiae* and *F. pseudograminearum* in New Zealand: molecular phylogenetic analysis, mycotoxin chemotypes and co-existence of species. *Mycological Research*, **109**, 410-420.
- MUNKVOLD G.P. (2003) Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. *Annual Review of Phytopathology*, **41**, 99-116.
- NCBI (2012) GenBank database. En: www.ncbi.nih.gov/Genbank (último acceso: julio 2012).
- NYVALL R.F. Y KOMMEDAHL T. (1970) Saprophytism and survival of *Fusarium moniliforme* in corn stalks. *Phytopathology*, **60**, 1233-1235.

- O'DONNELL K., KISTLER H.C., TACKE B.K. Y CASPER H.H. (2000) Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**, 7905-7910.
- OLDENBURG E. Y SCHITTENHELM S. (2012) Effect of plant water deficit on the deoxynivalenol concentration in *Fusarium*-infected maize kernels. *Mycotoxin Research*, **28**, 229-236.
- PARRY D.W., JENKINSON P. Y McLEAD L. (1995) *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals. *Plant Pathology*, **44**, 207-238.
- ROBERTSON-HOYT L.A., JINES M.P., BALINT-KURTI P.J., KLEINSCHMIDT C.E., WHITE D.G., PAYNE G.A., MARAGOS C.M., MOLNÁR T.L. Y HOLLAND J.B. (2006) QTL mapping for *Fusarium* ear rot and fumonisin contamination resistance in two maize populations. *Crop Science*, **46**, 1734-1743.
- SCHOLLENBERGER M., MÜLLER H.-M., ERNST K., SONDERMANN S., LIEBSCHER M., SCHLECKER C., WISCHER G., DROCHNER W., HARTUNG K. Y PIEPHO H.-P. (2012) Occurrence and distribution of 13 trichothecene toxins in naturally contaminated maize plants in Germany. *Toxins*, **4**, 778-787.
- SEELING K. Y DÄNICKE S. (2005) Relevance of the *Fusarium* toxins deoxynivalenol and zearalenone in ruminant nutrition. A review. *Journal of Animal and Feed Sciences*, **14**, 3-40.
- VINCELLI P. Y PARKER G. (2002) Fumonisin, vomitoxin, and other mycotoxins in corn produced by *Fusarium* fungi. *Kentucky Cooperative Orientation Service, University of Kentucky*, ID-121.
- VISENTIN I., VALENTINO D., CARDINALE F. Y TAMIETTI G. (2010) DNA-based tools for the detection of *Fusarium* spp. pathogenic on maize. En: Gherbawy Y. y Voight K. (Eds) *Molecular identification of fungi*, pp. 107-129. Berlín, Alemania: Springer-Verlag.
- WHITE T.J., BRUNS T., LEE S. Y TAYLOR J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J. y White T.J. (Eds) *PCR protocols: a guide to methods and applications*, pp. 315-322. San Diego, CA, USA: Academic Press.
- WU F. (2007) Measuring the economic impacts of *Fusarium* toxins in animal feeds. *Animal Feed Science and Technology*, **137**, 363-374.

BIODIVERSITY OF *FUSARIUM* SPECIES IN STALKS OF FORAGE MAIZE IN GALICIA (NW SPAIN)

SUMMARY

In Galicia (NW Spain), silage maize is extensively used for animal feeding, especially in dairy cattle farms. Several *Fusarium* species can cause stalk and ear rot in maize, which, besides reducing crop yield, are detrimental to performance, fertility and health of livestock. The aim of this work was to study the natural occurrence of *Fusarium* species in stalks of forage maize in Galicia, in order to know which mycotoxins might be present in silage. We identified, by morphological and molecular methods, the *Fusarium* species present in 45 forage maize hybrids grown in the province of A Coruña (NW Spain) under natural conditions of severe drought stress. At time of cutting for silage, one or more toxigenic *Fusarium* species were detected in all hybrids. The most prevalent species were *Fusarium graminearum*, which produces deoxynivalenol and zearalenone, and a *Fusarium* sp., which were found in 80% and 64.4% of the samples, respectively.

Key words: *Fusarium graminearum*, maize hybrids, mycotoxins, *Zea mays*.