

## ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE AISLADOS DE *ASPERGILLUS FLAVUS* NO AFLATOXIGÉNICOS, POTENCIALES AGENTES DE BIOCONTROL EN MAÍZ, AISLADOS EN SANTIAGO DEL ESTERO Y REGIÓN COLINDANTE DE TUCUMÁN Y CÓRDOBA

Javier Barontini (1)\*, Verónica Trucco (1), Karina Torrico (1), Marcelo Druetta (2), Sofía Chulze (3), María de la Paz Giménez (1)

(1) Instituto de Patología Vegetal - Unidad de Fitopatología y Modelización Agrícola - Centro de Investigaciones Agropecuarias - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (IPAVE - UFYMA - CIAP - INTA - CONICET), Córdoba, Córdoba, Argentina.

(2) Estación Experimental Agropecuaria Quimilí - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA - INTA), Quimilí, Santiago del Estero, Argentina.

(3) Instituto de Investigación en Micología y Micotoxicología, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad Nacional de Río Cuarto (IMICO - CONICET – UNRC), Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

\*[barontini.javier@inta.gob.ar](mailto:barontini.javier@inta.gob.ar)

*Aspergillus flavus* infecta la espiga de maíz causando pudrición y frente a condiciones climáticas estresantes, cepas aflatoxigénicas producen la toxina nociva para la salud humana y animal. El desarrollo de estrategias de biocontrol basadas en la exclusión de cepas aflatoxigénicas de un determinado nicho ecológico, requiere conocer caracteres de la población, como por ejemplo su diversidad genética. El análisis filogenético establece relaciones evolutivas entre y dentro de las especies, indica las que comparten ancestros comunes y las distancias evolutivas entre ellas. Para ello, el gen *CaM* es un carácter ampliamente utilizado debido a que la calmodulina es una proteína encargada de regular gran variedad de enzimas. El objetivo del trabajo fue establecer relaciones filogenéticas de secuencias de un segmento del gen *CaM*, de aislamientos de *A. flavus* no aflatoxigénicos, colectados en áreas cultivables de Santiago del Estero, Tucumán y Córdoba. A partir de 30 aislados mantenidos en la colección del IPAVE - CIAP - INTA, se realizó una suspensión de esporas y se ajustó a  $1 \times 10^6$  conidios.mL<sup>-1</sup>. Posteriormente, se inocularon en medio lixiviado de papa y glucosa (LP) y se incubaron en agitación a 150 rpm y  $25 \pm 2$  °C. Se colectó el micelio, se pulverizó con N<sub>2</sub> y extrajo el ADN con CTAB. Se amplificó un segmento del gen *CaM* con los iniciadores CL1 y CL2A (O'Donnell *et al.*, 2000) y los fragmentos del tamaño esperado de 688 pb se purificaron utilizando columnas Wizard® SV Gel and PCR clean - Up system (Promega). Las secuencias obtenidas mediante el método Sanger (Macrogen, Corea del Sur) se alinearon con el programa Clustal X2. Se utilizó el programa MEGA 7 para la selección del mejor modelo de sustitución nucleotídica y para obtener los árboles filogenéticos empleando los métodos "Vecinos más cercanos" y "Máxima verosimilitud", con un bootstrap de 10.000 réplicas. Las secuencias se compararon con la de referencia NW\_002477238.1 y con *A. niger* MH645004.1 del GeneBank. La totalidad de las secuencias pertenecieron al clado *A. flavus*. El polimorfismo entre los aislamientos de las diferentes localidades fue bajo, con un nivel de variabilidad genómica similar entre las secuencias e identidad nucleotídica entre 99,4% y 100%. La alta similitud entre los aislados para este carácter, mostró que la diversidad genética es casi nula, en esta región geográfica. El análisis de regiones genómicas menos conservadas, complementado con estudios de caracterización morfológica permitirá avanzar en la selección de aislados de *A. flavus* atoxigénicos, con potencialidad para su utilización como biocontroladores.