

> INTRODUCCIÓN <

Durante el cultivo de maíz (*Zea mays* L), la espiga puede contaminarse con hongos productores de pudriciones, entre ellos especies del género *Aspergillus*, predominantemente *A. flavus*. En condiciones favorables para el crecimiento del hongo puede producir aflatoxinas.

Del mismo ecosistema donde se desarrollan las cepas toxigénicas es posible aislar cepas atoxigénicas que pueden emplearse para control biológico a nivel de campo si tienen la capacidad de desplazamiento o exclusión competitiva de las primeras. La cantidad de esporas que produce una cepa correlaciona positivamente con su habilidad competitiva.

> OBJETIVO <

Evaluar la adaptabilidad de cepas no aflatoxigénicas y su capacidad para competir con cepas aflatoxigénicas a diferentes temperaturas.

> METODOLOGÍA <

Se seleccionaron de la Colección de Cultivos del Instituto de Patología Vegetal 8 cepas no aflatoxigénicas promisorias y 4 cepas tóxicas. Se realizaron 20 subcultivos sucesivos en medio 5/2 y pruebas de producción de aflatoxina cada cinco generaciones, analizadas por icELISA y HPLC (Fig 1).

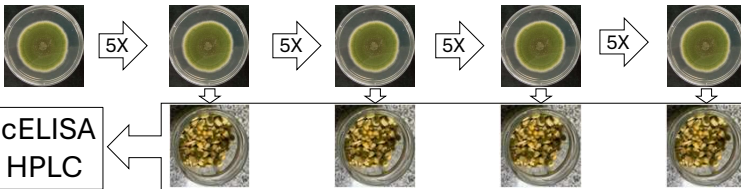


Fig 1. Secuencia experimental de repique y verificación de producción de aflatoxinas. La fila superior muestra 20 crecimientos de *Aspergillus flavus* en platos de Petri, con transferencias seriadas indicadas por '5X'. La fila inferior ilustra su inoculación en granos de maíz para la posterior cuantificación de aflatoxinas.

Se sembraron en Agar de Levadura Czapek e incubaron a 9 temperaturas, de 5 a 45 °C. Se midió diariamente el diámetro de la colonia y al séptimo día se hizo un recuento de esporas con un hemocitómetro. Todo se realizó por duplicado con tres repeticiones y se aplicaron métodos no paramétricos para su análisis.

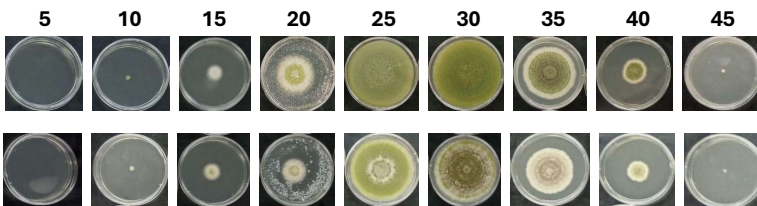


Fig 2. Séptimo día de crecimiento de la cepa no aflatoxigénica AS04322 (fila superior) y cepa aflatoxigénica AS08811 (fila inferior) a 9 temperaturas diferentes.

> RESULTADOS <

Todas las cepas probadas mantuvieron su fenotipo. Los resultados confirmaron que todas las cepas de *A. flavus* clasificadas como no aflatoxigénicas a lo largo de los 20 repiques no produjeron Aflatoxinas.

Las curvas de crecimiento y producción de esporas exhibieron una tendencia en forma de campana, alcanzando un máximo cerca de los 30°C.

Entre 5°C y 25°C, las cepas mostraron un crecimiento constante. Al alcanzar temperaturas entre 25°C y 40°C, las cepas no aflatoxigénicas mostraron ventaja sobre las tóxicas. Por encima de los 40°C, todas las cepas disminuyeron considerablemente su tasa de crecimiento, sin mostrar diferencias significativas entre ellas a estas temperaturas más elevadas. Tanto a temperaturas bajas (<10°C) como a temperaturas altas (>40°C), se observa un crecimiento mínimo cercano a 0 mm/día para todos los grupos. En ningún caso se llegó a temperaturas letales.

Entre 5°C y 20°C, las cepas mostraron un aumento en la producción de esporas. Las cepas no aflatoxigénicas presentaron una mayor producción de esporas en comparación con las cepas toxigénicas, alcanzando un máximo de 110 M/mm<sup>2</sup> para las no toxigénicas, frente a 80 M/mm<sup>2</sup> para las toxigénicas. A partir del tercer día de ensayo, se observó la producción de esclerocios en las cepas toxigénicas entre 20°C y 35°C, lo que pudo haber influido en la diferencia en la producción de esporas.

Se observaron modificaciones en su patrón de crecimiento

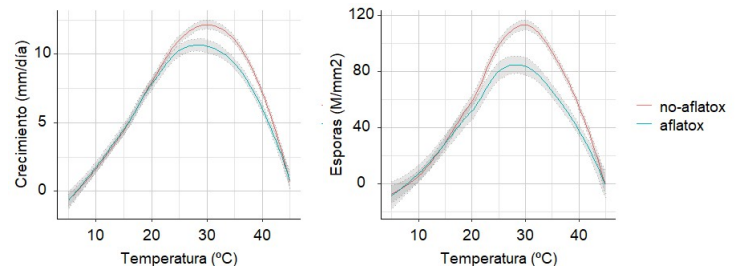


Fig 3. Relación entre la temperatura y el crecimiento (izquierda) y la producción de esporas (derecha) en dos grupos de cepas: productoras de aflatoxinas (aflatox, en azul) y no productoras (no-aflatox, en rojo).

> CONCLUSIONES <

- Se ha confirmado la estabilidad de las cepas no aflatoxigénicas,
- Las curvas de crecimiento y de producción de esporas mostraron una tendencia en forma de campana, alcanzando un máximo cerca de los 30°C.
- Se destaca el comportamiento diferencial de las cepas no aflatoxigénicas sobre las aflatoxigénicas en temperaturas cercanas a 30°C.
- Tanto a temperaturas bajas (<10°C) como a altas (>40°C), el crecimiento fue mínimo.
- No se alcanzaron temperaturas letales.

Financiamiento: Proyecto INTA I120, I073, Fundación ArgenINTA, UFYMA

El presente trabajo forma parte de la tesis de posgrado del primer autor.