

**Título: Prevención de la contaminación con fumonisinas en el grano de maíz**

**Subtítulo: Planificación de cultivo en el Noroeste Español.**

**Resumen:** En el noroeste de España existe riesgo de contaminación natural con fumonisinas en el grano de maíz siendo recomendable, en la medida de lo posible, la cosecha temprana para reducir la incidencia. Del mismo modo, el desarrollo de variedades resistentes podría contribuir en el futuro a disminuir dicha contaminación.

**Autores: Rogelio Santiago<sup>1</sup>, Ana Butrón<sup>1</sup>, Ana Cao<sup>1</sup> y Rosa Ana Malvar<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup>Misión Biológica de Galicia, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)**

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por diversos hongos principalmente pertenecientes a los géneros *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus* y *Penicillium*. Estas toxinas son un conjunto diverso de moléculas con distintas propiedades químicas, biológicas y toxicológicas. Muchas de ellas se acumulan en cultivos destinados a la alimentación humana y animal, o bien pueden aparecer durante su almacenamiento, lo que puede conllevar un alto riesgo para la salud ya que muchos alimentos pueden verse contaminados.

Las enfermedades causadas por la ingesta de micotoxinas se denominan micotoxicosis. Los daños que causan, así como los órganos diana y su grado de toxicidad, varían de unas a otras y dependen también del huésped. Los efectos que ocasionan pueden ser de tipo agudo o crónico, dependiendo del tiempo de exposición y la cantidad de micotoxinas consumidas. En general, afectan a varios órganos y sistemas, principalmente a hígado y riñones, y a los sistemas inmune, endocrino y nervioso. Pueden tener efectos mutagénicos, afectar al desarrollo embrionario y consumidas de forma prolongada pueden llegar a ocasionar cáncer.

Debido a que son un problema de salud, actualmente se vigila el contenido en micotoxinas en los alimentos destinados a consumo humano y animal, y existe legislación al respecto en la Unión Europea y cada vez en más países del resto del mundo. Los cultivos más susceptibles a la contaminación con micotoxinas son los cereales, los frutos con cáscara y algunas frutas, así como sus productos derivados (Sanchis y otros, 2004). De todas las micotoxinas identificadas hasta el momento, cinco familias son consideradas actualmente las más importantes a nivel mundial por su toxicidad, el tipo de cultivos que se ven afectados y el impacto económico que suponen. Estas micotoxinas son las aflatoxinas, la ocratoxina A, la zearalenona, las fumonisinas y los tricotecenos (Tabla 1).

Tabla 1. Relación de las principales micotoxinas, los hongos que las producen, los principales alimentos donde aparecen y los efectos fisiopatológicos que pueden causar en animales y/o humanos (Sanchis y otros, 2004; Bennet y Klich, 2003; D'Mello y otros, 1999).

<b>Micotoxinas</b>	<b>Hongos productores</b>	<b>Alimentos</b>	<b>Efectos fisiopatológicos</b>
Aflatoxinas	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. parasiticus</i>	Cereales, higos, frutos secos, especias, leche	Daños hepáticos, inmunosupresión, carcinogénesis
Ocratoxina A	<i>A. ochraceus</i> <i>A. carbonarius</i> <i>Penicillium verrucosum</i>	Cereales, café, zumo de uva, vinos	Daños renales y hepáticos, inmunosupresión, tetarogénesis, carcinogénesis, genotoxicidad

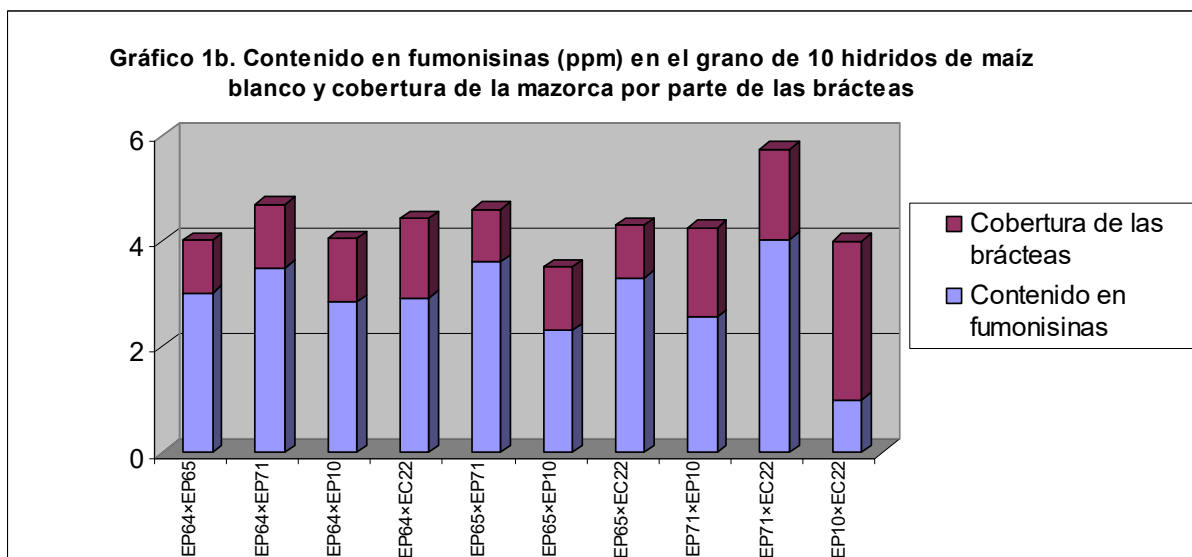
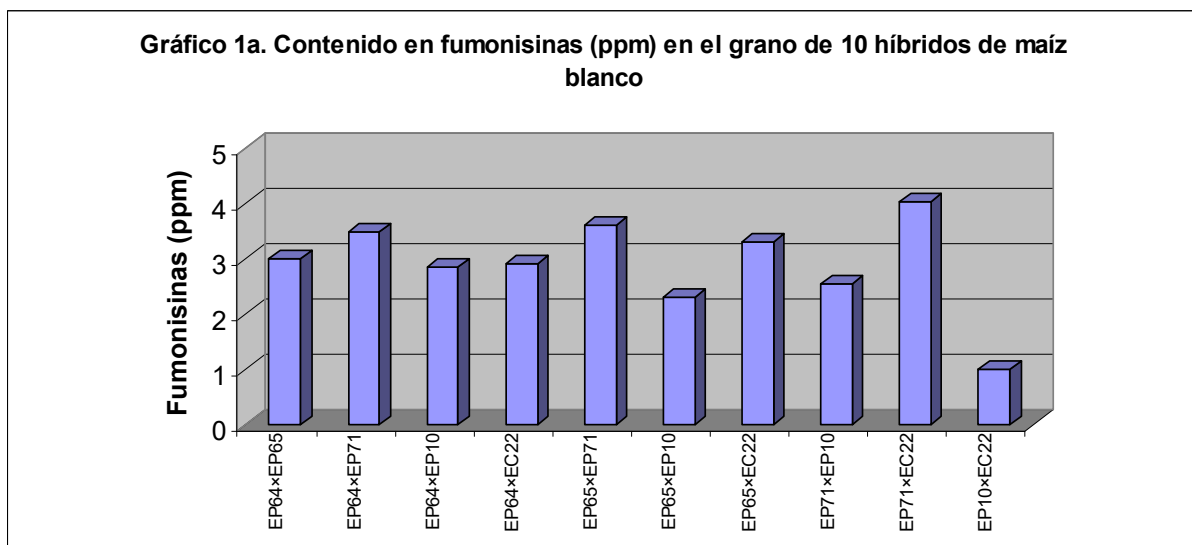
Zearalenona	<i>Fusarium graminearum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. equiseti</i> <i>F. cerealis</i>	Cereales	Síndrome estrogénico, esterilidad
Tricotecenos	<i>F. graminearum</i> <i>F. sporotrichioides</i> <i>F. poae</i>	Cereales	Daños gastrointestinales, vómitos, pérdida de peso y apetito, inmunosupresión, daños dermatológicos y neurológicos
Fumonisinias	<i>F. verticillioides</i> <i>F. proliferatum</i>	Maíz	Daños neuronales, daños renales, edema pulmonar y cerebral, daños hepáticos, carcinogénesis

Centrándonos en el cultivo de maíz en España, *Fusarium verticillioides* y *F. proliferatum* son las especies fúngicas más abundantes en el grano de maíz y ambas producen fumonisinias. Estas micotoxinas son un grupo estructuralmente relacionado de compuestos. Se han reconocido y clasificado por lo menos 18 análogos de las fumonisinias en las series A, B, F y P. La serie B es la más común y la más tóxica de los análogos (Figura 1). Las fumonisinias provocan leucoencefalomalacia (necrosis del tejido cerebral) en caballos, edema pulmonar en cerdos, reducido crecimiento en pollos y alteraciones hepáticas y del sistema inmune en vacuno (Logrieco y otros, 2003), y han sido clasificadas por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, 2002) como “agentes posiblemente carcinogénicos en humanos” (grupo 2B) debido a una mayor incidencia de cáncer de esófago en poblaciones con una alta ingesta de maíz contaminado (Marasas, 2001).

En la actualidad, existe una recomendación de la Unión Europea (UE) (Recomendación 2006/576/CE) que establece valores orientativos máximos de fumonisinias en los piensos destinados a cerdos, caballos, conejos y animales de compañía (5 ppm), peces (10 ppm), aves de corral, corderos, cabritos y terneros de menos de 4 meses (20 ppm) y a rumiantes de más de 4 meses (50 ppm). Así mismo, la UE ha establecido los límites máximos admitidos de fumonisinias en el maíz para consumo humano y en sus derivados mediante el Reglamento CE 1126/2007, en vigor a partir del 1 de noviembre de 2007. La UE fija un límite de tolerancia de 4 ppm para el grano sin procesar que se dedicará a consumo humano, 1 ppm para maíz y alimentos a base de maíz destinados al consumo humano directo, 0,8 ppm en cereales para el desayuno a base de maíz y aperitivos de maíz y 0,2 ppm en alimentos para bebés y niños. En el caso del noroeste español, en concreto en el sur de Galicia, en una primera evaluación del nivel de riesgo de sufrir contaminaciones con fumonisinias se observó que la mayor parte de los híbridos de maíz ensayados presentaban más de 2 ppm de fumonisinias en el grano y uno de ellos incluso superaba los 4 ppm (Butrón y otros, 2006) (Gráfico 1a).

El riesgo alimentario que supone consumir un alimento o pienso con elevados niveles de fumonisinias viene determinado principalmente por las condiciones de cultivo, ya que la infección del grano de maíz con *F. verticillioides* y *F. proliferatum* y la contaminación con fumonisinias se inician en el campo y las condiciones de cultivo ejercen una gran influencia sobre ambos procesos. Por lo tanto es necesario prevenir la contaminación en el campo para poder garantizar que los alimentos derivados del maíz no supongan ninguna amenaza para la salud humana y

animal. Existen muchos factores que favorecen la infección del grano de maíz por parte de *F. verticillioides* y *F. proliferatum* y la subsiguiente contaminación con fumonisinas, entre los que cabe destacar el daño producido por la plaga del taladro (insectos lepidópteros cuyas larvas se alimentan del grano y tallo de maíz facilitando la contaminación con hongos) (Fotografía 1), cualquier tipo de estrés que sufra la planta, y las siembras y recolecciones tardías. Asimismo, existen ciertas características de la mazorca que pueden tener también un gran impacto sobre el desarrollo del hongo y la producción de fumonisinas, de este modo se cree que un mayor grosor del pericarpio del grano, la ausencia de daño en los mismos y una buena cobertura de brácteas dificultan la contaminación con fumonisinas (Fandohan y otros, 2003). En este caso, en los híbridos utilizados en el estudio de Butrón y otros (2006) se encontró que el nivel de fumonisinas en grano presentó una correlación negativa con la cobertura de las brácteas (Fotografías 2A y 2B) (Gráfico 1b).



Aunque se conocen múltiples factores ambientales y genéticos que favorecen la infección y posterior contaminación con fumonisinas, se hace necesario cuantificar dicha influencia en condiciones reales de campo para poder conocer el nivel de riesgo en cada región y los puntos críticos de control tal y como recomienda la UE. En el anexo de la Recomendación de la Comisión de las Comunidades Europeas 2006/583/CE se recogen ciertos principios para la prevención y reducción de la acumulación de toxinas de *Fusarium* en los cereales. Entre las

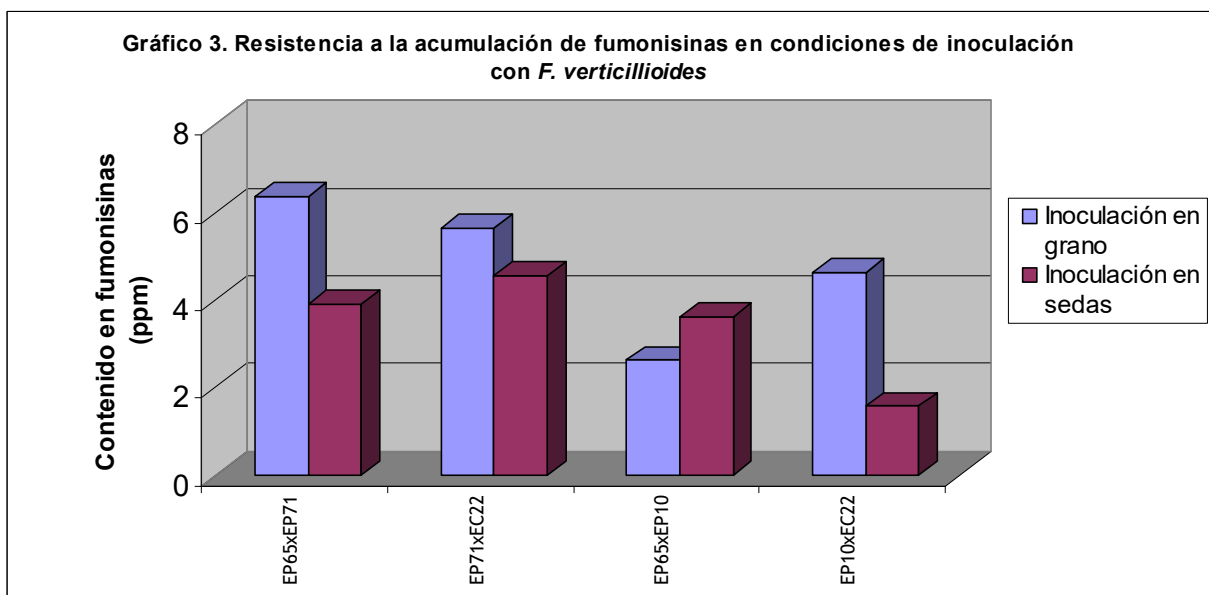
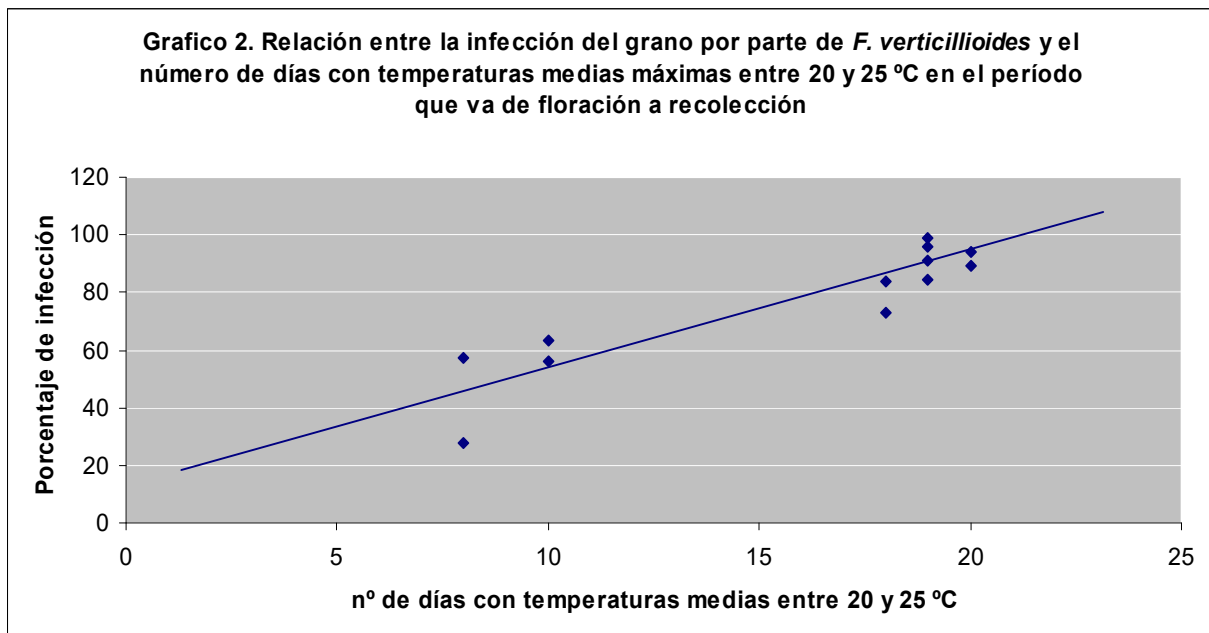
medidas a adoptar para prevenir o minimizar la contaminación con micotoxinas producidas por hongos del género *Fusarium* en precosecha, la UE recomienda el uso de variedades resistentes a las infecciones por *Fusarium* y a las plagas de insectos, así como una correcta planificación del cultivo para evitar condiciones climáticas que favorezcan la contaminación (puntos 7 y 8 de la Recomendación de la Comisión 2006/583/CE).

Por todo lo dicho anteriormente, en nuestro grupo de investigación nos hemos planteado los siguientes objetivos que estamos abordando gracias a la financiación de dos proyectos (uno financiado por la Xunta de Galicia, PGIDIT06TAL40301PR, y otro por el MICINN, AGL2009-12770): (1) estudiar los factores ambientales y genéticos que influyen en el desarrollo de los hongos productores de fumonisinas (*F. verticillioides* y *F. proliferatum*) y en su capacidad para producir estas micotoxinas, (2) y evaluar la resistencia genética del maíz a la contaminación con fumonisinas. Con estos objetivos pretendemos obtener conclusiones de índole práctica como saber si existen ciertas prácticas agronómicas, condiciones climáticas o características de la planta de maíz que podrían ser clave para reducir la contaminación con fumonisinas. Esto permitiría establecer sistemas de alarma, de modo que, si, por ejemplo, un año se dan condiciones climáticas especialmente adecuadas para la producción de fumonisinas, se elaboren pautas de actuación que puedan contrarrestar ese efecto desfavorable. Desde el punto de vista genético, se está estudiando si existe variabilidad genética suficiente en el maíz susceptible de ser cultivado en el noroeste de España para iniciar un programa de mejora con la finalidad de obtener variedades de maíz con alta resistencia a la contaminación con fumonisinas.

Dentro del proyecto PGIDIT06TAL40301PR, con el fin de cuantificar la influencia de los factores climáticos y genotípicos en ambos parámetros (infección y contaminación), se han llevado a cabo ensayos de seis híbridos de maíz, que difieren en cuanto a la resistencia a la plaga del taladro, en distintas localidades de la provincia de Pontevedra durante dos años consecutivos (2007-2008). Los resultados preliminares han mostrado que en años con condiciones climáticas menos favorables para la contaminación con fumonisinas, las siembras tempranas son más favorables para la acumulación de fumonisinas que las tardías, contrariamente a lo que han sugerido otros autores (Fandohan y otros, 2003), y los híbridos resistentes al taladro muestran niveles de contaminación más bajos, tal y como era esperable. Sin embargo, cuando las condiciones climáticas son muy favorables para el desarrollo de las fumonisinas, no se detectan diferencias entre siembras o híbridos, pero se detecta una clara diferencia entre una cosecha temprana (2,6 ppm de fumonisinas en grano) y una tardía (4,9 ppm), de acuerdo con estudios previos que recomendaban recoger pronto (Bush y otros, 2004). Del estudio de datos climáticos que más influyeron en el contenido en fumonisinas en 2007 y 2008 se extrae que las condiciones de sequía entorno a la floración y de alta humedad en el periodo de secado son determinantes a lo hora de observar elevados niveles de fumonisinas en el grano. Además, altas temperaturas durante todo el proceso de formación, maduración y secado del grano favorecen la infección por parte del hongo predominante, *F. verticillioides*; ya que, la variable independiente número de días con temperatura media entre 20 y 25 °C explicó más del 80% de la variabilidad para porcentaje de infección del grano por parte de *F. verticillioides* (Gráfico 2).

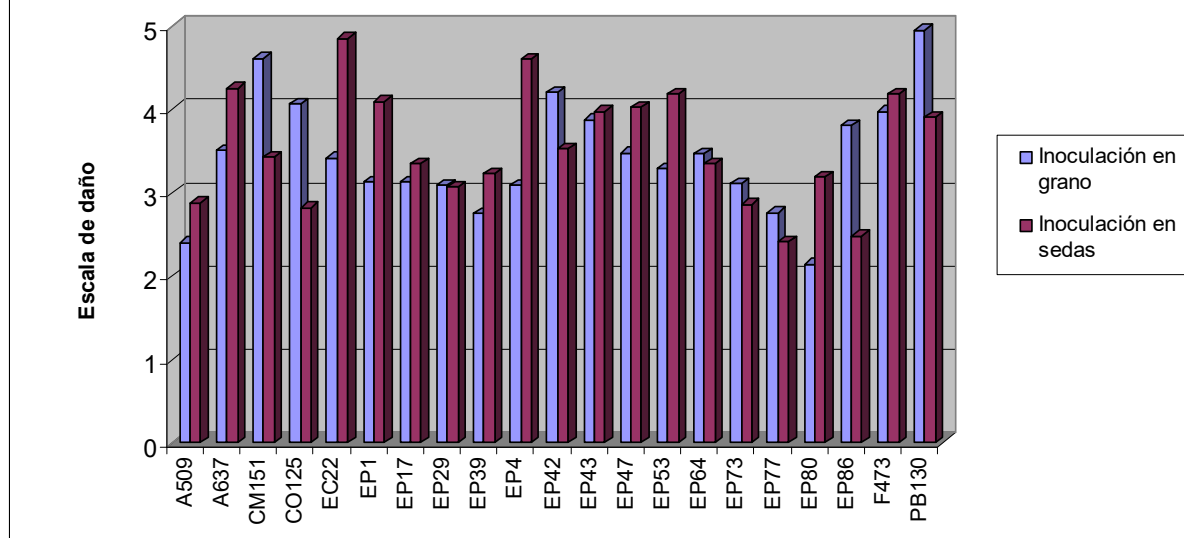
La inoculación natural no garantiza una distribución generalizada y homogénea del inóculo, de modo que cuando se quieren comparar niveles de resistencia se hace necesario inocular artificialmente. En este sentido, se han evaluado en condiciones de inoculación artificial con *F. verticillioides* cuatro híbridos de maíz blanco que previamente habían diferido para la contaminación en fumonisinas en condiciones de infección natural (Butrón y otros, 2006) (Gráfico 3). La inoculación artificial en grano o sedas se realiza en base a la posible existencia de diferentes mecanismos de resistencia a la infección en sedas o en grano (Fotografías 3A y 3B). En el gráfico 3 se observa que las inoculaciones con *F. verticillioides*, tanto en grano como en el canal de las sedas, corroboraron las diferencias de resistencia a la contaminación con fumonisinas (Butrón y otros, 2006). Es de destacar que los niveles de fumonisinas en los híbridos más

resistentes fueron menores del límite marcado por la UE para el maíz para consumo humano sin procesar, 4 ppm.



En el proyecto AGL2009-12770 se realizará una evaluación más completa de la variabilidad para resistencia a la infección y contaminación del maíz adaptado al norte de España, ensayándose en condiciones de inoculación artificial las aproximadamente 270 líneas del banco de germoplasma de la Misión Biológica de Galicia (CSIC). Previamente hemos comprobado si las condiciones de inoculación artificial descritas por otros autores (Reid y Hamilton, 1996) resultan adecuadas en nuestras condiciones ambientales. De este modo se inocularon 21 líneas con 2 ml de un inóculo de esporas de *F. verticillioides* por planta 7 días tras floración, bien dentro del grano o en el canal de las sedas. Los resultados preliminares muestran diferencias entre variedades que nos permiten confiar en la eficacia de un programa de mejora con la finalidad de obtener variedades de maíz con alta resistencia a la infección y contaminación con fumonisinas (Fotografía 4)(Gráfico 4).

**Gráfico 4. Evaluación de la resistencia a *F. verticillioides* en líneas puras de maíz conservadas en la MBG**



#### Conclusiones:

Aunque nuestros datos son preliminares, podemos afirmar que en el noroeste de España existe un riesgo apreciable de contaminación natural con fumonisinas en el grano de maíz y sería recomendable entre otros factores recoger temprano para reducir la incidencia de dichas contaminaciones. Del mismo modo, el desarrollo de variedades resistentes también podría contribuir a disminuir los niveles de fumonisinas en grano.

#### Referencias:

- Bennet J.W., Klich M. 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* 16:497-516.
- Bush BJ, ML Carson, MA Cubeta, WM Hagler, GA Payne. 2004. Infection and fumonisin production by *Fusarium verticillioides* in developing maize kernels. *Phytopathology* 94:88-93.
- Butrón A., Santiago R., Pintos-Varela C., Ordás A., Malvar R.A. 2006. Maize (*Zea mays* L.) genetics factors for preventing fumonisin contamination. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 54:6113-6117.
- D'Mello J.P.F., Placinta C.M., Macdonald A.M.C. 1999. *Fusarium* mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Animal Feed Science and Technology* 80:183-205.
- Fandohan P, K Hell, WFO Marasas, MJ Wingfield. 2003. Infection of maize by *Fusarium* species and contamination with fumonisin in Africa. *African Journal of Biotechnology* 2:570-579
- IARC. International Agency for Research of Cancer. 2002. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, volumen 82. Lyon, Francia.
- Logrieco A., Bottalico A., Mulé G., Moretti A., Perrone G. 2003. Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some mediterranean crops. *European Journal of Plant Pathology* 109:645-667.
- Marasas W.F.O. 2001. Discovery and occurrence of the fumonisins: a historical perspective. *Environmental Health Perspectives Supplements* 109:239-243.
- Reid LM, Hamilton RI. 1996. Effects of inoculation position, timing, macroconidial concentration, and irrigation on resistance of maize to *Fusarium graminearum* infection through kernels. *Canadian J Plant Sci* 18: 279-285.

- Recomendación 2006/576/CE de la Comisión, de 17 de agosto de 2006, sobre la presencia de deoxinivalenol, zearalenona, ocratoxina A, toxinas T-2 y HT-2 y fumonisinas en productos destinados a la alimentación animal. DO L 229: 7-9.
- Recomendación 2006/583/CE de la Comisión, de 17 de agosto de 2006, sobre la prevención y la reducción de las toxinas de Fusarium en los cereales y los productos a base de cereales. DOL 234: 35-40.
- Reglamento (CE) nº 1126/2007 de la Comisión, de 28 de septiembre de 2007 que modifica el Reglamento (CE) no 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios por lo que se refiere a las toxinas de Fusarium en el maíz y los productos del maíz. DOL 255: 14-17.
- Sanchis V., Marín S., Ramos A.J. 2004. Micotoxinas y seguridad alimentaria. Alimentación, Nutrición y Salud 11:17-23.