



**Confirmación de la resistencia a fungicidas
del agente causal de la mancha amarilla del trigo (*Drechslera
tritici-repentis*)***

Ing. Agr. Mg. Sautua Francisco & Ing. Agr. M.Sc. Dr. Carmona Marcelo

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Cátedra de Fitopatología

***Este trabajo forma parte del Proyecto UBACYT 20020170100147BA y fue parcialmente subsidiado por la empresa BASF Argentina S. A.**

Todo el sector triguero está sorprendido por la aparición inusitada de síntomas de enfermedades foliares y de espiga en varios genotipos, incluso luego de aplicaciones de fungicidas a base de mezclas de diferentes principios activos. En diversas localidades como Pergamino, Venado Tuerto, Bigand, San Pedro, Chacabuco, Chivilcoy, América, Mar del Sud, Gral Madariaga, Gral Alvarado solo por nombrar algunas, la aparición de manchas foliares aún después de 1-2 aplicaciones de fungicidas fue un denominador común (Foto N°1). Esta “ineficiencia” se viene observando desde hace algunos años atrás, donde los productores informaron sobre fallas de control.

Con el objeto de dilucidar la etiología de las manchas y la posible pérdida de sensibilidad de los patógenos involucrados a los fungicidas, se procedió a muestrear plantas representativas de cada lote objeto de sospecha. Numerosas técnicas de desinfección e incubación fueron llevadas a cabo. Los resultados arrojaron la esporulación de *D. tritici-repentis* en síntomas típicos de MA. En algunas muestras se evidenció la coexistencia con la Mancha de la gluma y del nudo causada por *Septoria nodorum* (*Parastagonospora nodorum*).



Foto N°1. Elevados niveles de intensidad de la MA del trigo en lotes con 2 aplicaciones de fungicida mezcla estrobilurina más triazol durante la campaña 2018/2019. Localidad: Chacabuco

Como resultados de los aislamientos, se obtuvieron 91 aislados de los siguientes sitios de la provincia de Buenos Aires: Chacabuco, Chivilcoy, San Pedro, Pergamino, Azul, La colina (Gral La Madrid) Mar del Sud (Gral Alvarado), y Gral Madariaga

De acuerdo a las características morfológicas se puede concluir que la gran mayoría de ellos correspondían a las características morfológicas típicas descritas en estudios previos para *D. tritici-repentis* (Ellis, 1971) Foto N° 2

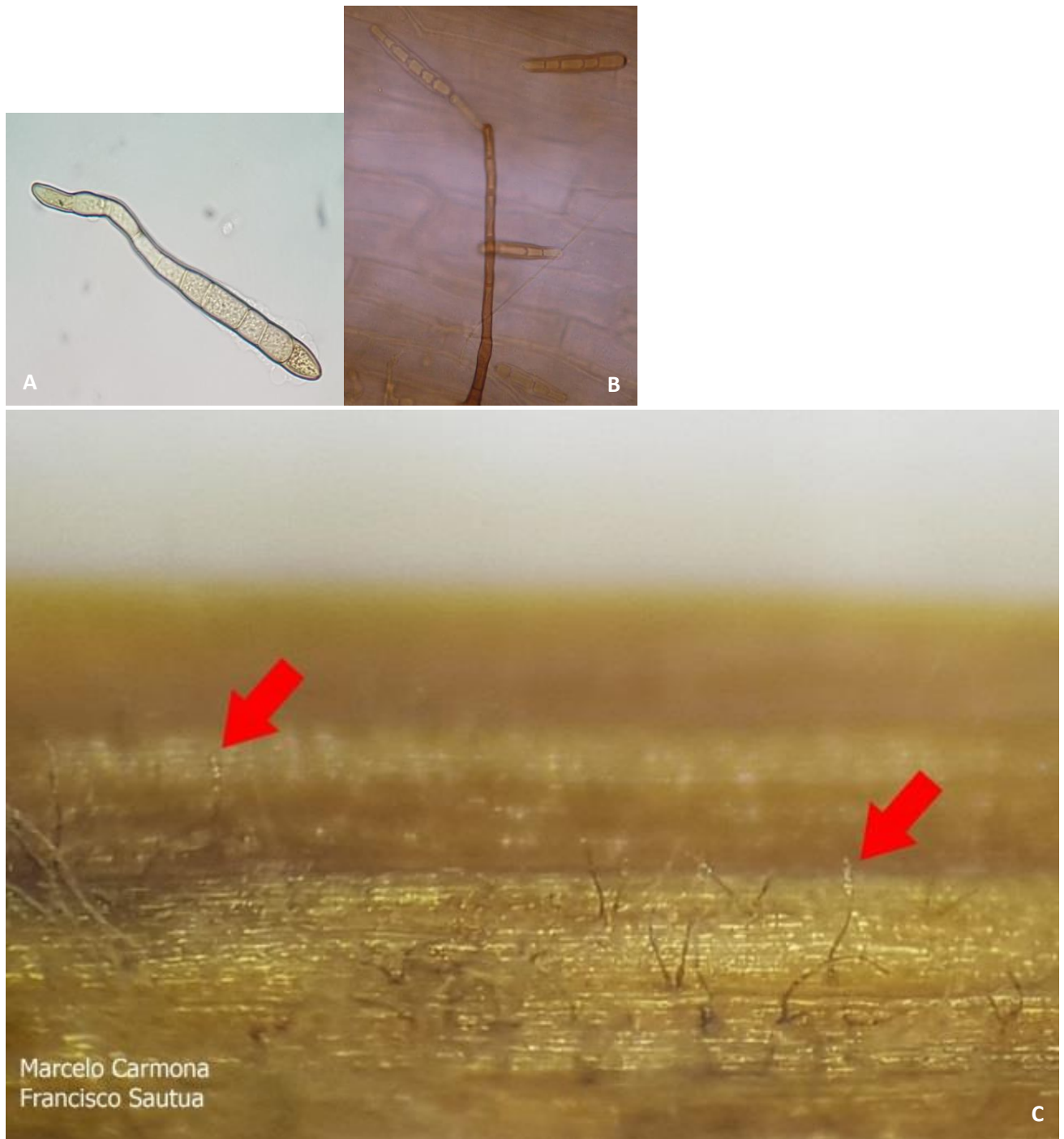


Foto 2. Estructuras reproductivas de *D. tritici-repentis*: (a) Conidio cabeza de cobra característico. (b y c) Conidios en conidióforos libres.

Para obtener aún más certeza en la confirmación de la especie, se secuenciaron los siguientes genes: ITS, *gpd*, primer específico para *Pyrenophora teres* f sp *maculata* (*Ptm*), toxina A (*toxA*) y toxina B (*toxB*). Con las secuencias de ITS y *gpd* se realizó un análisis filogenético de acuerdo con

Zhang et al. (2001). Los resultados muestran que todos los aislados testeados se agruparon en el clado* que incluye a *D. tritici-repentis*. Todos los aislados tuvieron una reacción de PCR negativa al primer específico para Ptm.

Se concluye que todos los aislados testeados corresponden a la especie D. tritici-repentis y todos ellos son productores de la toxina A, pero ninguno posee el gen para la toxina B.

**Clado: agrupación que contiene un antepasado común y todos los descendientes (vivos y extintos) de ese antepasado.*

Confirmación de Resistencia

Para evaluar la sensibilidad a fungicidas, se realizó un ensayo exploratorio de modo de discriminar en forma rápida y como primer paso, entre cepas resistentes y sensibles. Los 91 aislados fueron sometidos a 100 ug mL^{-1} de cada molécula QoI (inhibidores de la quinona externa) más frecuentemente usada en Argentina (azoxistrobina, piraclostrobina y trifloxistrobina; 98% de grado técnico), para cuantificar la inhibición del crecimiento micelial. La mayoría (90%) de los aislados creció a 100 ug mL^{-1} , observándose gran variabilidad entre cepas y moléculas QoI (Foto N° 3). Es de destacar que la dosis de 100 ug mL^{-1} es una dosis extremadamente alta que permite separar rápidamente las cepas resistentes de las sensibles.

Para determinar la presencia o no de mutaciones asociadas a la resistencia a estrobilurinas se secuenció el gen *cytb* en los 91 aislados bajo estudio.

El estudio molecular demostró que todos los aislados fueron portadores de la mutación G143A, que otorga una fuerte resistencia a las estrobilurinas en general.

Para evaluar la sensibilidad de los Inhibidores de la desmetilación IDM (triazoles, 98% grado técnico), se utilizó la misma metodología de inhibición de crecimiento micelial, pero utilizando una dosis discriminatoria de 60 ug mL^{-1} .

En este caso se observó el crecimiento de varios aislados en presencia de algunas moléculas triazoles indicando resistencia, mientras que otros principios activos inhibieron el crecimiento en un 100% en todos los aislados (Foto N°4).

Esta dosis de 60 ug mL^{-1} es suficiente para discriminar cepas cuando se evalúan triazoles. Debido a que la resistencia a los azoles es un proceso más complejo en el que pueden intervenir diferentes mecanismos moleculares, este trabajo continúa bajo estudio.



Foto N° 3. Pruebas de sensibilidad a moléculas Qol (estrobilurina) en aislado proveniente de Chivilcoy, Bs As. Obsérvese el crecimiento del patógeno a pesar de la dosis de 100 ug mL⁻¹. Se utilizaron moléculas provistas por dos fabricantes, arrojando resultados similares.



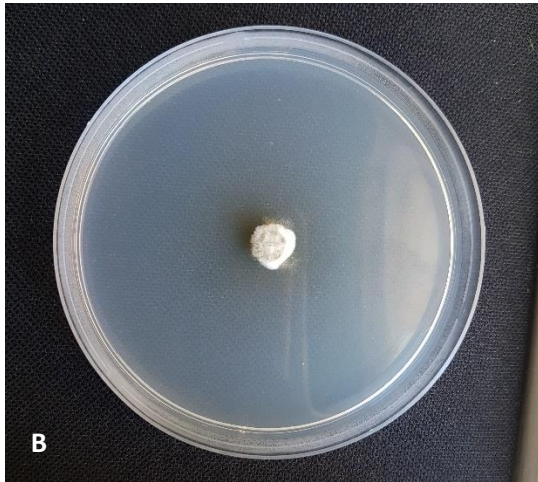


Foto N° 4. Ejemplo de prueba de sensibilidad a moléculas IDM (triazoles). A) Obsérvese el crecimiento del patógeno a pesar de la dosis de 60 ug mL^{-1} ; B) Aislado sensible (100% de inhibición). Aislados provenientes de Chacabuco, Bs As.

CONCLUSIONES

Este es el primer reporte en América del Sur de la confirmación de la presencia de la mutación G143A en el gen *cytb* de poblaciones de *D. tritici-repentis*.

Asimismo se detectaron cepas resistentes a algunos triazoles, cuyo estudio molecular sigue en progreso.

Agradecimientos: A los colegas que participaron del monitoreo y recolección de muestras: Ernesto Sakima, Andy Rosso, Matías Ermácora, Gustavo Duarte, Alejandro Porfiri.

A la empresa BASF S. A. por contribuir con parte de los fondos destinados a la determinación molecular de las mutaciones;

A las empresas NOVA S. A. y AGROFINA S. A. por proveer grado técnico de las moléculas estudiadas.

REFERENCIAS

ELLIS, M.B. Dematiaceous Hyphomycetes. Kew, CAB, 608p. 1971.

ZHANG G, BERBEE M.L. Pyrenophora phylogenetics inferred from ITS and glyceradehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. *Mycologia* 93(6): 1048-1063. 2001 DOI: 10.1080/00275514.2001.12063240