



CUARTO CONGRESO INTERNACIONAL
CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO
DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

CAMBIO EN LA SENSIBILIDAD AL FUNGICIDA TEBUCONAZOL EN LAS POBLACIONES DE *ZYMOSEPTORIA* *TRITICI*, PATÓGENO DE LA SEPTORIOSIS DE LA HOJA DEL TRIGO

Centro de Investigaciones de Fitopatología
(CIDEFI), Facultad de Ciencias Agrarias
y Forestales de La Plata

CAMBIO EN LA SENSIBILIDAD AL FUNGICIDA TEBUCONAZOL EN LAS POBLACIONES DE *ZYMOSEPTORIA TRITICI*, PATÓGENO DE LA SEPTORIOSIS DE LA HOJA DEL TRIGO

C. A. Cordo, C. Trofino, M. C. Stocco, C. I. Mónaco, N. I. Kripelz, P. Balatti*

Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de La Plata
fitopato@agro.unlp.edu.ar

RESUMEN

*La septoriosis de la hoja del trigo, producida por *Zymoseptoria tritici* (Quaedvlieg & Crous), necrosa el área fotosintética disminuyendo el rendimiento final. En Argentina la aplicación de fungicidas es una práctica común de control y los triazoles y las estrobilurinas son los más frecuentes. Los triazoles son activos inhibidores del ergosterol que abunda como parte constitutiva de la membrana de la célula fúngica. No obstante, el uso genera grados de tolerancia en el patógeno obligando a la utilización de mezclas de principios activos. El objetivo fue: evaluar la pérdida de sensibilidad al efecto del fungicida tebuconazol en las poblaciones de aislados de *Zymoseptoria tritici* de la región triguera argentina. Se cuantificaron: a) la tasa de crecimiento de las colonias fúngicas de 46 aislados creciendo en APG sólido con fungicida incorporado, en relación a los mismos creciendo en medio de cultivo sin el fungicida y b) el porcentaje de eficiencia del fungicida para cada uno de los aislados. El análisis de Kruskal Wallis categorizó a los aislados en dos tipos de respuesta: 1-tolerantes, que superan el efecto inhibitor del fungicida; 2-que no superan el crecimiento en presencia del fungicida. La experiencia internacional explica la tolerancia al fungicida por alteraciones genéticas producidas en el gen CYP51, responsable en el patógeno de la sensibilidad al químico. El siguiente avance será diagnosticar la presencia de los genotipos alterados para recomendar el uso adecuado de los principios activos.*

Palabras Clave: trigo, *Zymoseptoria tritici*, *Mycosphaerella graminicola*, fungicida, triazol.

*Cristina Cordo: cristcordo@gmail.com; Clara Trofino: claratrofino@hotmail.com; Marina Stocco: stocco343@yahoo.com.ar; Cecilia Mónaco: cecilia.mónaco7@gmail.com; Natalia Kripelz: kripelznatalia72@gmail.com; Pedro Balatti: pbalatti@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades foliares causadas por hongos son la mayor restricción biótica que limita el rendimiento y la calidad en trigo (*Triticum aestivum* L.) (Serrago *et al.*, 2005; Ermácora, 2008). En Argentina, las manchas foliares están producidas por organismos necrótrofos o hemibiótrofos que causan muerte del tejido foliar. Las manchas más importantes son: la mancha amarilla *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs., *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoemaker y la mancha de la hoja del trigo causada por *Septoria tritici* Rob. ex Desm., Teleomorph *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt. in Cohn, actualmente el patógeno se denomina *Zymoseptoria tritici* (Desm.) (Quaedvlieg *et al.*, 2011); produce manchas amarillentas como puntos que luego se alargan, se tornan marrón pálido y finalmente marrón oscuro, usualmente rodeadas por una zona estrecha y amarilla (Castillo y Cordo, 2014). El patógeno foliar, dependiendo de la intensidad de la infección reduce el rendimiento a través de la reducción de la tasa fotosintética, aumentando la tasa respiratoria y disminuyendo la translocación de fotosintatos a partir del tejido infectado (Binghan *et al.* 2009). La fotosíntesis de la planta enferma está reducida debido a la destrucción del área fotosintética. Cuando la infección es temprana, la planta infectada produce menos macollos y se reduce el número de espigas y de granos por espiga, y los granos resultan más pequeños, con pobre calidad harinera; mientras que las infecciones tardías pueden reducir el peso de mil granos (Simón *et al.*, 2002). Se registraron pérdidas del rendimiento entre 20 % y 50 % en cultivares de alto rendimiento (Annone *et al.*, 1991).

El control de *Z. tritici* se realiza de forma integradacombinando varias medidas, ya sea preventivas, como la resistencia genética, el manejo de las fechas de siembra y de la resistencia de los cultivares según la zona de cultivo, la aplicación de fertilizantes y el manejo del sistema de labranza o curativas, como la aplicación de fungicidas (Carmona y Sautua, 2014).

La estrategia de control por resistencia genética ha sido poco exitosa debido a que la reacción del patógeno es altamente variable según el cultivar que colonice y además este muestra un alto grado de especialización al adaptarse a la condición de resistencia y al tornarse más patogénico al cabo de unos pocos años. Los cultivares en la Argentina son en general moderadamente susceptibles a susceptibles con solo unos pocos con moderada resistencia, aunque la práctica del manejo integrado incluye cultivares con aceptable nivel de resistencia.

En el país la aplicación de fungicidas es una práctica habitual en el manejo de enfermedades en trigo. Más aún, el uso de fungicidas es importante porque la región triguera argentina combina cultivares moderadamente susceptibles de base genética estrecha, con elevado potencial de rendimiento y sembrados en una gran superficie. Todo esto, sumado a una elevada presión de inóculo del patógeno derivado de adecuados niveles de humedad, temperatura que influye en la aparición del patógeno, condiciona la aparición de enfermedades (Simón *et al.*, 2013).

Los triazoles y las estrobilurinas son los fungicidas sistémicos usados para controlar las enfermedades foliares del trigo en la Argentina (Simón *et al.*, 2013). Datos estadísticos (Campos, 2008) han demostrado que el 50 % de los productos usados en Argentina son triazoles y que el 50 % restante es una combinación de formulaciones que contiene triazoles y estrobilurinas.

Los fungicidas sistémicos son adsorbidos por la superficie de las hojas o raíces y son translocados dentro de la planta a través de los conductos xilemáticos (Arregui y Purichelli, 2008). Este tipo de fungicidas generalmente se mueven hacia arriba en el tallo por efecto de la transpiración y pueden acumularse en los márgenes de la hoja. Los fungicidas que basan su acción en la inhibición de la síntesis de los esteroides (ISE) han dominado los últimos 25 años el control contra *Z. tritici*. El grupo químico de los Triazoles basa su efecto en este mecanismo, con la inhibición de la enzima 14 α -dimetilasa como mecanismo para inducir resistencia al tebuconazol (Leroux *et al.*, 2007).

Los triazoles están caracterizados por ser un activo inhibidor del ergosterol que es el mayor esteroide en los hongos. Los esteroides derivan de los terpenos y son una parte esencial de la membrana de la célula fúngica. Estas moléculas son rígidas y achatadas y en su asociación con la membrana celular le dan estabilidad haciéndolas flexibles y permitiendo el control de la permeabilidad. Los Inhibidores de la síntesis del Ergosterol (IsSE) han llegado a ser uno de los más importantes grupos de fungicidas, de todos modos ellos no son efectivos en controlar Oomicetos debido a que ellos no poseen la vía de síntesis del ergosterol (Arregui y Purichelli 2008; Simón *et al.*, 2013).

El Tebuconazol es sistémico y es absorbido y redistribuido vía xilemática (movimiento acropétalo). Tiene propiedades preventivas, curativas y erradicantes cuando es aplicado sobre el follaje de las plantas (Arregui y Purichelli, 2008). Los resultados presentados en este trabajo corresponden al primer año de experimentación en busca de indicadores que señalen aislados del patógeno tolerantes a la acción del fungicida. El objetivo principal de este estudio fue: evaluar la pérdida de sensibilidad al efecto del fungicida tebuconazol en las poblaciones de aislados de *Zymoseptoria tritici* (patógeno de la "mancha de la hoja del trigo"), de diferentes áreas de la región triguera argentina. Para ello se cuantificó el efecto *in vitro* del fungicida a través de la tasa de crecimiento de las colonias fúngicas de los aislados en el medio de cultivo con fungicida incorporado, en relación a los mismos aislados crecidos en medio de cultivo sin el fungicida. Adicionalmente se calculó el porcentaje de eficiencia del fungicida para cada uno de los aislados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los 46 aislados de *Z. tritici* presentes en este estudio provinieron de diferentes localidades de la región triguera argentina. En la tabla 1 se presenta la lista completa, con el dato de origen geográfico y año de obtención. De cada hoja recolectada (perteneciente a un sitio de la recolección), se consideró una sola lesión. De cada hoja con lesión se aislaron tres cirros y las

conidiosporas contenidas en el cirro se cultivaron en medio YMA¹. Luego la colonia mucosa, correspondiente a una conidiospora, se aisló y se cultivó en medio Agar extracto de malta.

La técnica utilizada para este tipo de aislamientos fue la de Libbo y Lee (1999) publicada en Cordo *et al.* (2006). Las hojas con lesiones típicas que contienen picnidios se cortaron en trozos de 5 cm de longitud, se esterilizaron superficialmente con alcohol 70, una solución doméstica de hipoclorito de sodio a una concentración de 0,5 % y finalmente agua destilada estéril. Los tiempos de desinfección fueron 10, 90 y 50 segundos respectivamente para alcohol 70, hipoclorito de sodio y agua destilada estéril; luego se secó con papel secante y se colocó 48 h en cámara húmeda a una temperatura de 20 °C. El cirro de conidios (constituido por blastosporas) se tomó con una aguja fina de vidrio y luego se transfirió a una caja con medio YMA (extracto de levadura 5.0, extracto de malta 20.0, agar 22.0 g/L). Una vez crecido, se refregó en forma de estría con un ansa sobre la superficie del medio. La colonia mucosa se repicó a tubos y cajas de Petri con medio agar extracto de malta y se conservó en heladera a 8 °C. La colección de los 46 aislados se preservó como colonias monospóricas en envases de vidrio con vaselina estéril y en glicerol como alternativa al uso de la vaselina líquida estéril. Para ello se preparó una dilución de glicerol al 25 %, se fraccionó en frascos de vidrio de 12mL con tapa a rosca, se esterilizó 20 min a 121 °C, se dejó enfriar y se procedió a repicar trozos de colonia monospórica de cada uno de los aislados conservándolas a 18 °C.

MEDICIÓN DE LA TOLERANCIA AL TEBUCONAZOL

El tebuconazol utilizado fue el formulado comercial provisto. Se utilizó el fungicida tebuconazole, con nombre comercial Folicur ®25 EW por la compañía Bayer Crop Science.

El diseño experimental fue aleatorizado con diez repeticiones considerando cada caja una repetición.

En un erlenmeyer de 500 mL preparar 90 mL de medio de cultivo Agar papa glucosado (APG) con cloranfenicol (250 mg/L). Esterilizar y al descender la temperatura a 50 °C agregar 50 uL de dimetil sulfoxido (DMSO). En otro erlenmeyer de 500 mL preparar 100mL de agua destilada estéril e incorporar 2500uL de fungicida previamente filtrado (equivalente a la concentración de campo de 400 cm³/ha)

Tomar un volumen de 10mL de la solución del fungicida e incorporar al medio de cultivo. Para el control, preparar en otro erlenmeyer de 100mL, 90 mL de APG (2 g/100 mL) con cloranfenicol y agregarle 10 mL de agua destilada estéril y 50 uL de DMSO.

Sembrar en diez cajas de Petri de 9 cm de diámetro, 10 mL del medio de cultivo con fungicida en cada uno.

Realizar el mismo procedimiento sembrando diez cajas de Petri con el medio de cultivo sin fungicida.

¹ Medio de cultivo YMA (agar extracto de malta y extracto de levadura).

Repicar un disco del patógeno crecido en medio de cultivo APG de 2 cm de diámetro aproximadamente en cada una de las cajas sembradas con medio de cultivo con fungicida y sin fungicida.

Incubar durante siete días a 23 °C y ciclos alternados de luz/oscuridad. Realizar la primera medición de los radios horizontal y vertical tomando dos planos a 90° cada uno. Continuar incubando bajo las mismas condiciones hasta cumplir catorce días de incubación.

Para el análisis promediar ambos radios. La velocidad de crecimiento también se midió y se expresó en $\text{mm} \times \text{d}^{-1}$.

Se calculó la tasa de inhibición del crecimiento de la colonia utilizando la siguiente fórmula: $(A-B/A) \times 100$; donde: *A* es el valor del promedio de los radios horizontal y vertical del control sin fungicida, *B* es el valor del promedio de los radios horizontal y vertical de los tratamientos con fungicida. Esta fórmula refleja el porcentaje de eficiencia en la acción del fungicida.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Los resultados de la velocidad de crecimiento (en cm) de cada aislado de *Z. tritici* se analizaron con un enfoque no paramétrico con el *test* de Kruskal y Wallis (1952), a través de un análisis de varianza de una vía. Además del estadístico de la prueba de Kruskal Wallis (*H*), se obtuvo el valor *p* asociado (*p*) y el factor de corrección que Infostat utiliza en casos de similitudes al comparar de a pares las medias de los rangos de tratamiento o contrastes.

También se presentan los valores medios para cada aislado de la velocidad de crecimiento diaria y de la eficiencia en la acción del fungicida.

RESULTADOS

Los aislamientos obtenidos pertenecían a las campañas 2012-2015 de las localidades de Pergamino, Carlos Casares, Balcarce, Necochea, Tres Arroyos, San Cayetano, Coronel Dorrego, Bahía Blanca, Polvorines provincia de Córdoba (Marcos Juárez), Miramar y Bahía Blanca, cubriendo una amplia zona de la región triguera (tabla 1). Desde el aspecto morfocultural y respondiendo a los colores de las colonias, el 83 % de los aislamientos, sin relacionarse con la localidad de procedencia, resultaron de color Olivaceous grey, en tanto que un 3 % fue Iron grey y otro 4 % de color Olivaceous black.

Con respecto a la estructura de las colonias, el 53 % correspondió al tipo estromático que es la morfología de colonias características de *Z. tritici*; un 3 % es de estructura mucosa, rosada, constituida por blastosporas, y, por último, el 44 % restante que fueron de tipo miceliar (figura1). Para estos caracteres tampoco existió relación con la localidad de origen.

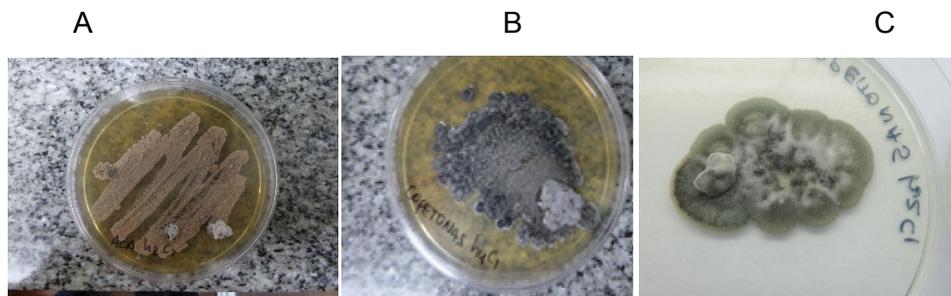
Tabla 1. Lista de aislamientos de *Zymoseptoria tritici* procedentes de distintas localidades de la región triguera argentina

	Aislamiento	Origen	Año
aislamiento			
1	FALP013SM1h1c2R2*	Tres Arroyos	2013
2	FALP013SM1h2c1R2	Tres Arroyos	2013
3	FALP013SMh1c1R2	Tres Arroyos	2013
4	FALP015ACAh1c1R1	Bahía Blanca	2015
5	FALP013CMh1c1R2	Tres Arroyos	2013
6	FALP014AUh1c1R2	Polvorines	2014
7	FALP014AUh2c1R2	Polvorines	2014
8	FALP014AUh4c1R2	Polvorines	2014
9	FALP014AUh5c1R2	Polvorines	2014
10	FALP013APAh1c2R2	Coronel Dorrego	2013
11	FALP013APAh2c1R2	Coronel Dorrego	2013
12	FALP013APAh3c1R2	Coronel Dorrego	2013
13	FALP013LDS2h2c3R2	San Cayetano	2013
14	FALP013PERh2c1R2	Pergamino	2013
16	FALP013COPh2c2R2	Tres Arroyos	2013
17	FALP013COPh3c1R2	Tres Arroyos	2013
18	FALP013CARh2c3R2	San Cayetano	2013
19	FALP013LIN Ah1c1R2	Córdoba(MJ)	2013
20	FALP013LIN Ah2c2R2	Córdoba(MJ)	2013
21	FALP013LIN Ah4c1R2	Córdoba(MJ)	2013
22	FALP013LIN Ah3c1R2	Córdoba(MJ)	2013
23	FALP013LAVERh4c1R2	Córdoba(MJ)	2013
24	FALP013LAVERh5c2R2	Córdoba(MJ)	2013
25	FALP013PERh3c3R2	Pergamino	2013
26	FALP015MIRs1h2c1R1	Miramar	2015
27	FALP015MIRs2h3c1R1	Miramar	2015
28	FALP014OREh1c1R2	Tres Arroyos	2014
29	FALP014LDs4h3c1R2	SanCayetano	2014
30	FALP015ACAh2c1R1	Bahía Blanca	2015
31	FALP014AUh3c1R2	Polvorines	2014
32	FALP013KGUEh2c1R2	Córdoba(MJ)	2013
33	FALP013KGUEh6c1R2	Córdoba(MJ)	2013
34	FALP013KGUEh5c1R2	Córdoba(MJ)	2013
35	FALP013LDs1h1c1R2	SanCayetano	2013
36	FALP013LDs3h2c2R2	SanCayetano	2013
37	FALP013LDs3h1c2R2	SanCayetano	2013
38	FALP013LDs2h2c1R2	SanCayetano	2013

39	FALP013LDs4h1c2R2	SanCayetano	2013
40	FALP013LDs4h2c1R2	SanCayetano	2013
41	FALP013PERh1c1R2	Pergamino	2013
42	FALP013CMh3c1R2	Tres Arroyos	2013
43	FALP013BINTAh1c1R2	Córdoba(MJ)	2013
44	FALP013BINTAh2c1R2	Córdoba(MJ)	2013
45	FALP015MIRs1h1c1R2	Miramar	2015
46	FALP015MIRs1h3c1R2	Miramar	2015

*La nomenclatura utilizada incluye los datos de: residencia de la colección, año de aislamiento, localidad de procedencia, sitio o puesto de recolección de hoja, número de hoja y cirro. Ejemplo: FALP, 013, La Dulce, Sobre 2, hoja 1, cirro 1= FALP013LDS2h1c.

Figura 1. Tipos morfo culturales de talo y colores de las colonias de aislados de *Z. tritici*



A- Mucoso y Rosy buff B- estromático y Olivaceous black; C- miceliar y Pale olivaceous grey

MEDICIÓN DE LA TOLERANCIA AL TEBUCONAZOL

El análisis no paramétrico confirmó diferencias significativas ($p < 0,0001$) entre aislados, al comparar el tratamiento con fungicida y el control sin él. Se establecieron distintos rangos de respuesta a la acción del químico.

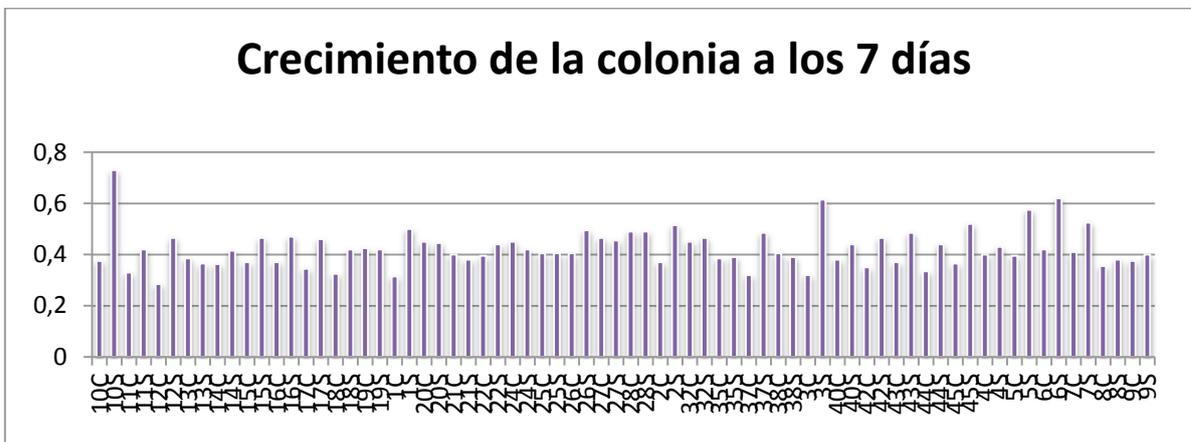
Existe una gran variabilidad en cuanto a la respuesta de los aislados al efecto del fungicida, demostrado por las diferentes velocidades de crecimiento en el medio APG a los siete y catorce días de observación, como así también en los valores de la tasa de crecimiento diario. Para el radio de crecimiento de la colonia a los siete días, se categorizaron las siguientes respuestas:

- 1- Aislados que en presencia del fungicida crecieron más que sin fungicida como: los aislados 13, 19, 20, 21, 24, 27 y 38.
- 2- Aislados que crecen igual con y sin fungicidas que son los aislados 25 y 28.
- 3- Aislados que crecieron más sin fungicida, separados en dos grupos:
 - a) Los aislados con menor efecto del fungicida 11, 14, 15, 18, 22, 26, 32, 35, 40, 4, 8 y 9.

b) Los aislados con mayor efecto del fungicida: 10, 12, 16, 17, 1, 2, 37, 3, 42, 43, 44, 45, 5, 6 y 7.

En la figura 2 se presenta el comportamiento de los 46 aislados creciendo en APG con y sin fungicida, a los siete días de incubación.

Figura 2 Tasa de crecimiento de los aislados de *Z. tritici* a los siete días de incubación



Eje horizontal, aislados de *Z. tritici*; eje vertical radio promedio en cm; 10C, 10S es el número del aislado creciendo con y sin fungicida

Para el radio de crecimiento de la colonia a los catorce días de incubación, se categorizaron las siguientes respuestas:

- 1- Aislados que en presencia del fungicida crecieron más que sin fungicida como los aislados: 19, 21, 24 y 27.
- 2- Aislados que crecieron más en ausencia del fungicida; divididos en dos grupos:
 - a) Los aislados con menor efecto del fungicida 20, 22, 25, 32, 38 y 9.
 - b) Los aislados donde el efecto del fungicida fue mayor: 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 1, 2, 26, 28, 35, 37, 3, 40, 42, 43, 44, 45, 4, 5, 6, 7 y 8.

La figura 3 representa los 46 aislados de *Z. tritici* a los catorce días de incubación en medio APG con y sin fungicida.

Figura 3. Tasa de crecimiento de los aislados de *Z. tritici* a los catorce días de incubación



Eje horizontal, aislados de *Z. tritici*; eje vertical radio promedio en cm; 10C, 10S es el número del aislado creciendo con y sin fungicida

Los resultados obtenidos hasta el momento se confirmaron cuando se aplicaron otros indicadores de tolerancia como el porcentaje de eficiencia en el tratamiento con el fungicida y la velocidad de crecimiento por semana y diaria para cada aislado. La tabla 2 resume estos resultados.

Tabla 2. Porcentaje (%) de eficiencia en el control de *Z. tritici* con el fungicida tebuconazol y la velocidad de crecimiento de cada uno de ellos en una semana y por día

Aislado	Porcentaje (%) de eficiencia	cm crecidos /semana	cm por día
1	60,2	0,11	0,015
2	58,9	0,01	0,001
3	70,3	0,00	0,00
4	58,9	0,00	0,00
5	61,5	0,00	0,00
6	63,3	0,00	0,00
7	61,4	0,00	0,00
8	91,4	0,04	0,005
9	17,01	0,09	0,012
10	49,2	0,09	0,012

11	49,26	0,01	0,001
12	71,5	0,06	0,0008
13	54,7	0,09	0,012
14	57,4	0,04	0,004
15	61,0	0,00	0,00
16	55,0	0,00	0,00
17	65,0	0,00	0,00
18	67,5	0,00	0,00
19	-7,14	0,06	0,004
20	16,66	0,00	0,00
21	4,7	0,00	0,00
22	-19,04	0,03	0,002
24	4,76	0,00	0,00
25	-7,14	0,00	0,00
26	-7,14	0,00	0,00
27	4,7	0,00	0,00
28	4,7	0,10	0,007

32	7,21	0,26	0,037
35	20,97	0,05	0,0007
37	55,6	0,16	0,022
38	17,52	0,00	0,00
40	56,3	0,00	0,00

42	1,48	0,11	0,007
43	57,2	0,00	0,00
44	63,5	0,00	0,00
45	59,7	0,04	0,005

Se presentan a los aislados 9, 20, 21, 24, 27, 28, 32, 35, 42 como los que superaron el efecto inhibitor del fungicida, es decir fueron tolerantes, con valores de eficiencia de acción que varió entre 1,48 y 17,45 %, lo que significa un 25 % del total de los aislamientos estudiados. Los restantes aislamientos, que representan un 75 % del total, se vieron vulnerados por el principio activo del fungicida.

En los aislamientos 19, 22, 25, 26 se obtuvieron valores negativos (-) (-7,14, -19,04, -7,14 y -7,14 respectivamente) de porcentaje de eficiencia en la acción del fungicida, lo que denota también tolerancia al producto químico. No se demostró aún la correlación estadística entre el lugar de procedencia de las poblaciones y la tolerancia de los aislados pertenecientes a estas, aunque por simple observación de los valores medios, las localidades de la Verbena y Marcos Juárez de la provincia de Córdoba reúnen el mayor número de individuos tolerantes.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En coincidencia con Cordo y Lindquist (1987), se afirma que *Z. tritici* es un hongo variable capaz de producir numerosos tipos culturales sobre medio artificial, y que el talo estromático fue el predominante entre los tipos de talo obtenidos desde los aislados de las diferentes áreas trigueras.

En las condiciones de campo argentinas, el uso de los fungicidas es una práctica común que se ajusta a la resistencia del cultivar y a la presión de inóculo del patógeno habitual de la zona (Simón *et al.* 2013).

El uso frecuente de un fungicida afectó la sensibilidad de los aislados de *Z. tritici*, efecto observado por primera vez y para este patógeno en el presente trabajo. Se demostró una alta variabilidad en la velocidad de crecimiento de las colonias de las población del patógeno en condiciones *in vitro* y en la velocidad registrada en forma semanal y diaria que condicionó la clasificación de los aislados en categorías. La frecuencia de cambio de los aislados hacia la tolerancia alcanzó en el primer año de investigación de 12/46 aislados cuando se cuantificó el porcentaje de eficiencia del tebuconazol, remarcando que nuestro país ha implementado durante muchos años el uso preventivo de los fungicidas. Los autores del presente trabajo (dato no mostrado) corroboraron en el primer año que con experimentos de inoculación en plántulas tratadas con el fungicida en el invernáculo, de 36 aislados de las mismas poblaciones, 19/36 desarrollaron algún tipo de tolerancia al producto, mientras que los restantes 17 permanecieron sensibles.

Los grados de tolerancia al efecto del fungicida se podrían atribuir a las mutaciones que ha experimentado el gen CYP51 según lo explicaron Leroux *et al.* (2007), Leroux y Walker (2011), Marzani (2011) y Yang *et al.* (2013).

Leroux y Walker (2011) identificaron cepas del patógeno altamente resistentes en Francia, Alemania e Irlanda. También describieron once posibles cambios en los genes que codifican para la enzima esterol 14 α -dimetilasa, requerida para la biosíntesis del esterol, compuesto indispensable en el metabolismo fúngico. La resistencia en los hongos a la acción de los fungicidas del grupo de los azoles se produce por diversos mecanismos que inhiben la acción de la mencionada enzima, como las mutaciones en un punto en el gen CYP51 que codifica para la síntesis de la enzima, disminuyendo su afinidad por el esterol; o por sobreexpresión del gen CYP51, lo que resulta en un elevado nivel de producto; o por una afinidad reducida a la enzima EDM, lo cual altera la producción de la pared fúngica mediante el déficit del esterol. Se han descrito 22 diferentes alteraciones en los aminoácidos que forman el gen CYP51 en las poblaciones europeas de *Mycosphaerella graminicola*. Cambios de la glicina al aspartato en la posición 460 o de la tirosina a la fenilalanina en la posición 137 y de la valina a la alanina en la posición 136 se describieron como genotipos alterados (variantes) (Leroux *et al.*, 2007).

Basados en las situaciones de resistencia descritas anteriormente, el desarrollo de la resistencia a los fungicidas comenzó a investigarse para *Z. tritici* bajo las condiciones argentinas. Hasta el momento: se ha observado en experimentos *in vitro* una variabilidad de los aislados en respuesta a la tolerancia al fungicida tebuconazole; se continuará trabajando en la puesta a punto de la técnica para amplificar el gen CYP51 a través de los cuatro sets de *primers* diseñados por Leroux *et al.* (2007) y se determinará la presencia de mutaciones asociadas a la sobre expresión del gen; se diagnosticará el estado de situación en las distintas regiones trigueras, para plantear estrategias de combinación de drogas y para lograr una situación de estabilidad en el control químico.

BIBLIOGRAFÍA

- ANNONE, J.; CALZOLARI, A.; POLIDORO, O. y CONTA, H. (1991). *Efecto de la mancha de la hoja causada por Septoria tritici sobre el rendimiento*. INTA Pergamino, Informe n.º 122.
- ARREGUI, M. C. y PURICELLI, E. (2008). *Mecanismos y modo de acción de fungicidas*. Dow Agrosience.
- BINGHAN, I. J.; WALTERS, D. R.; FOULKES, M. J. y PAVELEY, N. D. (2009). "Crop Traits and the Tolerance of Wheat and Barley to Foliar Disease". *Annals of Applied Biology*, vol. 154, pp. 159-173.
- CAMPOS, M. (2008). "Variedades y modelos generales de producción del movimiento CREA". *Producción de Trigo. CREA*, pp. 73-118.
- CARMONA, M. y SAUTUA, F. (2014). "Conceptos básicos del manejo integrado de enfermedades (MIE)". EnCORDO, C. y SISTERNA, M. (coords.). *Enfermedades del trigo en la Argentina* (pp. 345-349). La Plata, Argentina: EDULP.

- CASTILLO, N. y CORDO, C. (2014). "Septorios del trigo". En CORDO, C. y SISTERNA, M. (coords.). *Enfermedades del trigo en la Argentina* (pp. 200-223). La Plata, Argentina: EDULP.
- CORDO, C. A. y LINDQUIST, J. C. (1987). "Análisis cualitativo de la variabilidad cultural de *Septoria tritici*". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, vol. 25, n.º 1-2, pp. 59-77.
- CORDO, C.A.; LINDE C.C.; ZHAN J. y McDONALD, B. (2006). "Genotypic Diversity of the Wheat Leaf Blotch Pathogen (*Septoria tritici*) in Buenos Aires Province". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, vol. 41, n.º 3-4 pp. 293-305.
- ERMÁCORA, C. M. (2008). "Principales enfermedades en trigo: criterios para su manejo y control". *Producción de Trigo*. CREA, pp. 51-58.
- KRUSKAL-WALLIS (1985) [1952]. "Prueba de Kruskal-Wallis con *k* muestras". En STEEL, R. y TORRIE, J. *Bioestadística. Principios y Procedimientos* (2.ª ed.). Bogotá, Colombia: McGraw-Hill.
- LEROUX, P.; ALBERTINI, C.; GAUTIERE, A.; GREDT, M. y WALKER, A. S. (2007). "Mutations in the CYP51 Gene Correlated with Changes in Sensitivity to Sterol 14 α Demethylation Inhibitors in Field Isolates of *Mycosphaerella graminicola*". *Pest Management Science*, vol. 63, n.º 7, pp. 688-698.
- LEROUX, P. y WALKER, A. S. (2011). "Multiple Mechanisms Account for Resistance to Sterol 14 α Demethylation Inhibitors in Field Isolates of *Mycosphaerella graminicola*". *Pest Management Science*, vol. 67, n.º 1 pp. 44-59.
- MARZANI, Q. A. (2011). *Fungicide Resistance and Efficacy for control of Pyrenophora teres and Mycosphaerella graminicola on Barley and Wheat* (tesis). Universidad de Nottingham, Inglaterra.
- QUAEDVLIEG, W.; KEMA, G.H.; GROENEWARD, J.; VERKLEY, G.J.; SEIFBARGHI, S.; RAVAZI, M.; CROUS, P.W. (2011). "Zymoseptoria gen.nov.: a New Genus to Accommodate *Septoria*-like Species Occurring on Graminicolous Host". *Persoonia*, vol. 26, pp. 57-69.
- SERRAGO, R. A.; MIRALLES, D. J. y BANCAL, M. O. (diciembre, 2005). "Foliar Diseases in Wheat: Effect on Biomass Generation and its Physiological Components". *VII International Wheat Conference*. Mar del Plata, Argentina, p. 308.
- SIMÓN, M. R.; PERELLÓ, A. E.; CORDO, C. A. y STRUIK, P. C. (2002). "Influence of *Septoria tritici* on Yield, Yield Components and Test Weight of Wheat under Two Nitrogen Fertilization Conditions". *Crop Science*, vol. 42, pp. 1974-1981.
- SIMÓN, M. R.; FLEITAS, M. C. y SCHALAMUK, S. (2013). Recent Advances on Integrated Foliar Diseases Management with Special Emphasis in Argentina Wheat Production. En NITA, M. (Ed.). *Fungicides - Showcases of Integrated Plant Disease Management from Around the World*. InTech. doi: 10.5772/51950

YANG, L.; GAO, F.; SHANG, L.; ZHAN, J y MC DONALD, B. (2013). "Association between Virulence and Triazole Tolerance in the Phytopathogenic Fungus *Mycosphaerella graminicola*". *PLOS ONE*, vol. 8, n.º 3, pp. 1-8.