

# SENSIBILIDAD IN VITRO DE *Cercosporidium personatum* FRENTE AFUNGICIDAS UTILIZADOS PARA EL CONTROL DE LA VIRUELA DEL MANÍ

Bisonard, E.M.<sup>1</sup>; Cazón, I.<sup>1</sup>; Oddino, C.<sup>2</sup>; Edwards Molina, J.<sup>1</sup>; March, G.<sup>1,2</sup> y Rago, A.<sup>1,2</sup>

1.- IPAVE, INTA. Córdoba. 2.- Facultad de Agronomía y Veterinaria, UNRC

[rago.alejandro@inta.gob.ar](mailto:rago.alejandro@inta.gob.ar)

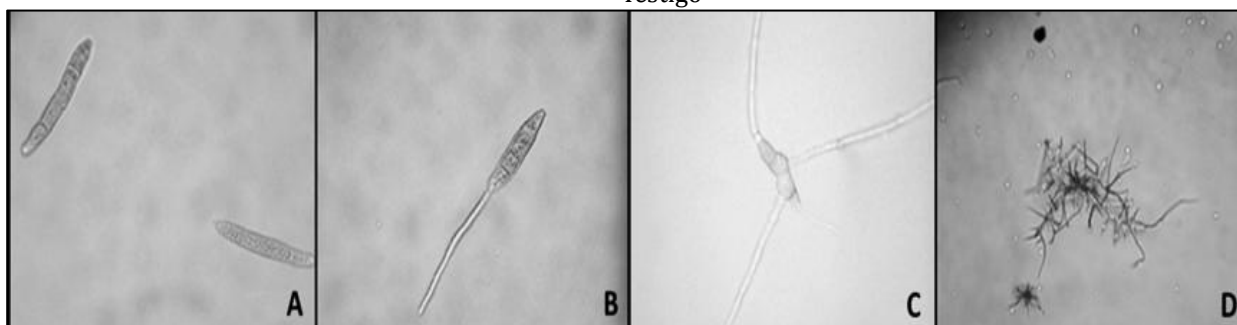
## Introducción

Estudios de sensibilidad de las poblaciones de hongos presentes en cada región ante los fungicidas utilizados comúnmente para el control de las enfermedades ocasionadas, permiten monitorear la posibilidad de ocurrencia de resistencia de subpoblaciones del patógeno. Para ello, la dosis de ingrediente activo necesarias para inhibir en un 50% (DE50) algún proceso infectivo (germinación de propágulos o crecimiento micelial), resulta de gran utilidad para comparar poblaciones de patógenos en una misma región a través del tiempo, o bien, poblaciones de patógenos en un mismo momento en diferentes regiones productivas. *Cercosporidium personatum* es uno de los agentes causales de la viruela del maní, la cual en años con condiciones favorables ha reemergido en campos de producción visualizándose a través de pérdidas de eficacia de los controles químicos comúnmente utilizados. El objetivo del presente trabajo fue desarrollar una metodología de evaluación de la sensibilidad de *C. personatum* ante los fungicidas empleados para su control.

## Materiales y métodos

Fueron obtenidos aislamientos de *C. personatum* a partir de hojas de maní con lesiones típicas de viruela tardía. La superficie de las hojas fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 0,5%, luego se enjuagaron con agua destilada estéril y colocaron en cámara húmeda con la superficie abaxial hacia arriba por 48 horas (25°C + luz constante). Después de este período, se raspó con un bisturí la superficie de cada lesión para separ los conidios y cuerpos de fructificación, los que se suspendieron en agua destilada estéril. Se colocaron 10 µL de la suspensión en un porta objetos y con la ayuda de una aguja y bajo microscopio óptico (10x) en cámara de flujo laminar, se recolectaron cuatro cuerpos de fructificación y ubicaron equidistantes en una placa de petri con medio POA (Peanut Oatmeal Agar). Se incubó a 23 °C con fotoperíodo de 12 horas durante 21 días. De las colonias resultantes del aislamiento se obtuvo una suspensión de conidios que se incubaron nuevamente en medio POA + Dextrosa a 23 °C con fotoperíodo de 12 horas durante 14 días. Una vez desarrolladas las colonias, se les agregaron 10 mL de agua destilada estéril con Tween 80 (2 gotas/100 mL de agua) a cada caja de petri y se liberaron los conidios con espátula de Drigalski. El líquido excedente se filtró con gasa para separar el micelio, obteniendo una suspensión pura de conidios. Se preparó una suspensión a  $1 \times 10^4$  conidios/mL. Se adicionaron 500 µL de ésta última a cada caja con las diferentes concentraciones de los fungicidas, carbendazim, tebuconazole, pyraclostrobin y pyraclostrobin+epoxiconazole, en agar-agua (50; 10; 1; 0,1 y 0 µg.mL<sup>-1</sup>). Las mismas se incubaron a 23 °C con fotoperíodo de 12 horas durante 7 días. Para la evaluación se eligieron al azar 24 conidios por caja y se consideraron dos respuestas posibles: conidio germinado (presencia de tubo germinativo igual o mayor al largo del conidio o esporulación) o conidio no germinado (sin presencia de tubo germinativo o crecimiento del mismo menor al tamaño del conidio) (Figura 1). Puede considerarse que un conidio germinado tiene potencial capacidad para originar una nueva lesión en el tejido vegetal. Con el total de conidios germinados se calculó la proporción de germinados del total y este valor fue relativizado respecto al testigo para el cálculo de inhibición de germinación conidial (IGC) según la fórmula:

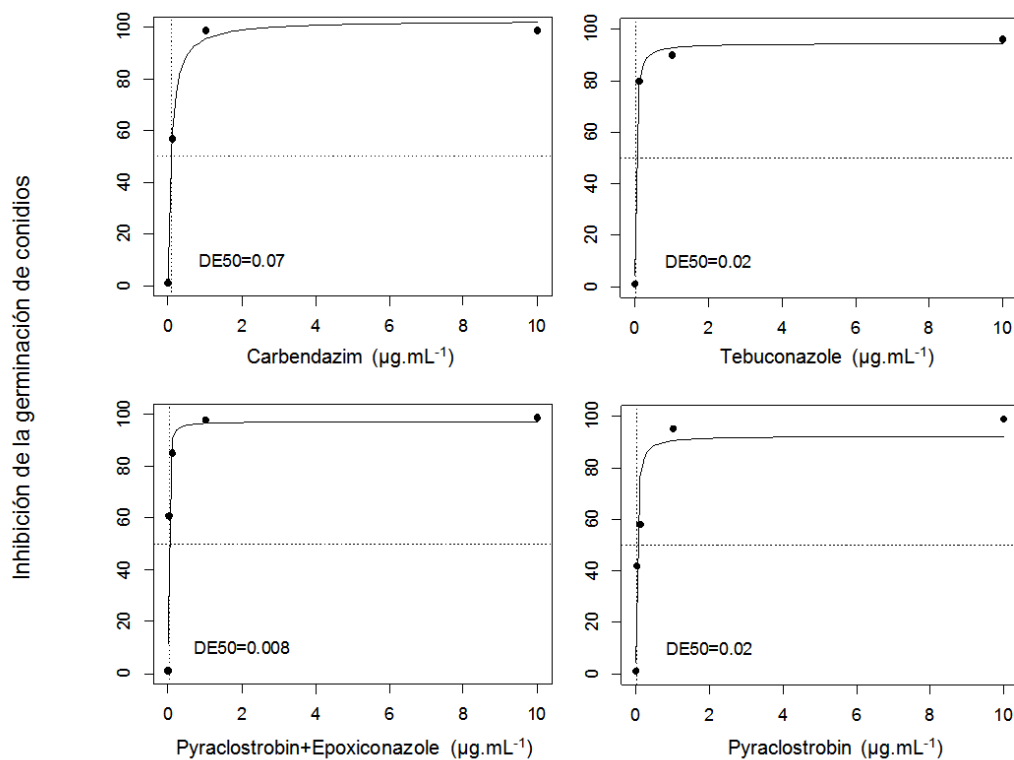
$$IGC = \frac{\text{Testigo} - \text{Tratamiento}}{\text{Testigo}}$$



**Figura 1:** Conidios de *C. personatum* sin emisión del tubo germinativo (A), con tubo germinativo mayor al largo del conidio (B), germinación múltiple (C) y esporulación (D).

## Resultados y discusión

La metodología empleada para evaluar la sensibilidad del aislamiento resultó ser adecuada permitiendo estimar la DE50 en condiciones in vitro. Los cuatro fungicidas testeados demostraron alta eficacia para inhibir el proceso germinativo de conidios de *C. personatum* en condiciones in vitro. Las DE50 de los mismos fueron: 0,008, 0,02; 0,02; 0,07  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  para Pyraclostrobin en combinación con Epoxiconazole, Pyraclostrobin, Tebuconazole y Carbendazim respectivamente (Figura 2). Los bajos valores obtenidos ( $<0,1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) indicarían que en condiciones in vitro el aislamiento estudiado de *C. personatum* mostró alta sensibilidad ante los principios activos testeados.



**Figura 2:** Curvas dosis-respuesta (Inhibición de la germinación de conidios de *C. personatum*) de los fungicidas Carbendazim, Tebuconazole, Pyraclostrobin y Pyraclostrobin+epoxiconazole.

Este tipo de trabajo debería ampliarse a mayor número de aislamientos para estimar el patrón de distribución de los DE50 de las poblaciones presentes en cada región. Esto permitirá monitorear la evolución de la resistencia del patógeno, aportando a un uso más racional de los fungicidas disponibles en el mercado, manteniendo la eficiencia de los mismos por más tiempo, principalmente en el caso de benzimidazoles y estrobilurinas que pueden sufrir resistencias de tipo disruptivas y dejar de ser efectivos en poco tiempo. Las dosis utilizadas in vitro muy probablemente tendrán escasa relación con las dosis de campo ya que la sensibilidad in vitro es siempre mayor. Para algunos tests in vivo las dosis de campo podrían ser aplicables, por lo que sería de gran utilidad desarrollar estas metodologías; siendo también pertinente realizar estudios in vitro apropiados al modo de acción de los diferentes fungicidas (crecimiento micelial, germinación de esporas) para evaluar cada principio activo en particular.

En base a estos resultados se realizarán nuevos trabajos para evaluar las dosis de control de un mayor porcentaje de unidades infectivas, ya que en condiciones de alta presión de la enfermedad, controlar solo el 50% (DE50), dejaría elevada cantidad de inóculo para infecciones secundarias, llegando a valores de severidad que causen pérdidas significativas de producción.

Financiamiento: FONCyT PICT N° 0945 y Programa Nacional de Cultivos Industriales – INTA.