

Resistencia a Fungicidas

Programa

- **Introducción**
- **Definición de resistencia a fungicidas**
- **Historia de la resistencia**
- **Origen de la resistencia.**
- **Mecanismos de resistencia**
- **Detección de la resistencia - Monitoreo.**
- **Evaluación del riesgo.**
- **Estrategias de manejo**
- **Perspectivas.**

Introducción

- **Ha existido una evolución en el uso de fungicidas desde sus orígenes hasta la actualidad.**
- **Los primeros fungicidas (Cu y S) hoy continúan siendo usados y mantienen su efectividad**
- **Los fungicidas intermedios también mantienen su efectividad a pesar de haber pasado más de 30 años de uso.**
- **Los fungicidas surgidos a partir del los años 60, 70 son los que comenzaron a manifestar problemas con la resistencia.**

Definiciones

- Resistencia natural o inherente
- Resistencia adquirida
 - insensibilidad
 - pérdida de sensibilidad
 - tolerancia
- Resistencia de laboratorio
 - Resistencia inducida artificialmente
- Resistencia de campo
 - Resistencia práctica

Table 1
 Emergence of Practical Fungicide Resistance in Crops*

Date first observed (approx)	Fungicide or fungicide class	Years of commercial use before resistance observed (approx.)	Main crop diseases and pathogens affected	Refs ⁺
1960	Aromatic hydrocarbons	20	Citrus storage rots, <i>Penicillium</i> spp.	[10]
1964	Organo-mercurials	40	Cereal leaf spot and stripe, <i>Pyrenophora</i> spp.	[11]
1969	Dodine	10	Apple scab, <i>Venturia inaequalis</i>	[12]
1970	Benzimidazoles	2	Many target diseases and pathogens	[13]
1971	2-Amino-pyrimidines	2	Cucumber and barley powdery mildews, <i>Sphaerotheca fuliginea</i> & <i>Erysiphe graminis</i>	[14]
1971	Kasugamycin	6	Rice blast, <i>Magnaporthe grisea</i>	[15]
1976	Phosphorothiolates	9	Rice blast, <i>Magnaporthe grisea</i>	[15]
1977	Triphenyltins	13	Sugar-beet leaf-spot, <i>Cercospora betae</i>	[16]
1980	Phenylamides	2	Potato blight and grape downy mildew, <i>Phytophthora infestans</i> & <i>Plasmopara viticola</i>	[17]
1982	Dicarboximides	5	Grape grey mould, <i>Botrytis cinerea</i>	[18]
1982	Sterol demethylation inhibitors (DMIs)	7	Cucurbit and barley powdery mildews, <i>Sphaerotheca fuliginea</i> & <i>Erysiphe graminis</i>	[19]
1985	Carboxanilides	15	Barley loose smut, <i>Ustilago mida</i>	[20]

* Modified from [3] + General references, not always first records

- *Streptomyces diastatochromogenes*
- *Streptomyces scabies* (sarna común de la papa)
- 1999
- *Agrobacterium radibacter*
- *Agrobacterium tumefaciens* (agalla de corona)

La resistencia en su justo lugar

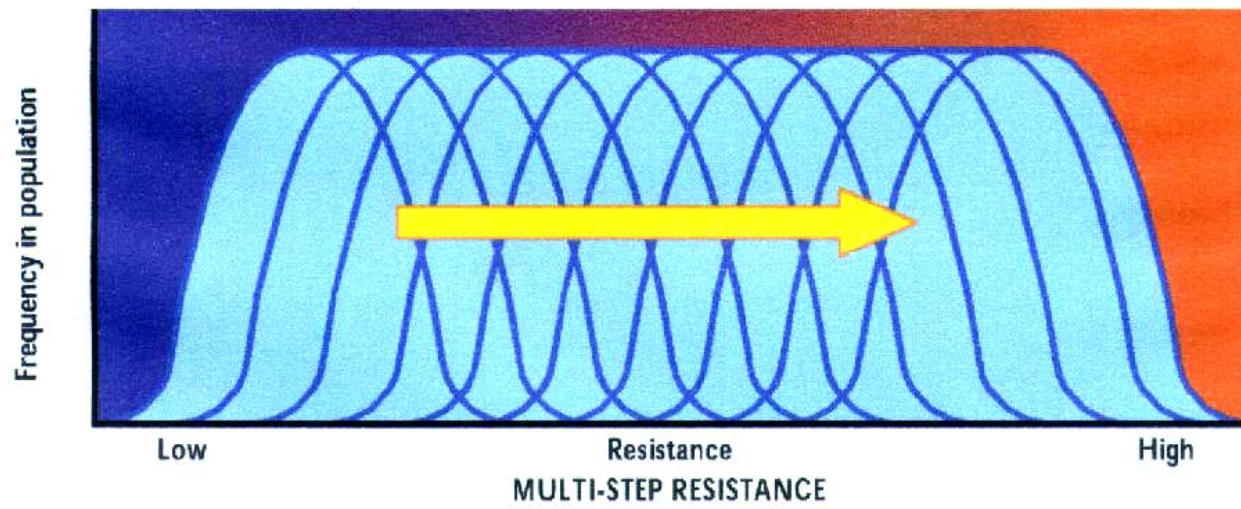
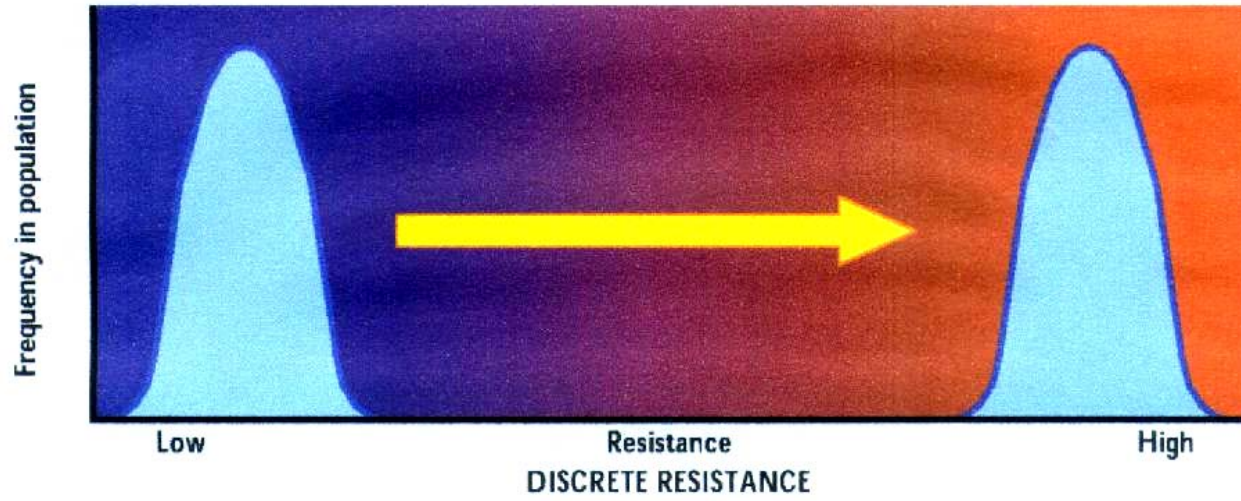
Razones por las que puede fallar el control:

- Mal diagnóstico
- P.A. no efectivo contra el patógeno.
- Mala aplicación:
 - Mala cobertura
 - Aplicación con viento
 - Excesiva velocidad
 - Mala calibración
 - Cond. ambientales desfavorables
 - Concentración / dosis
 - Mala calidad del agua (pH)
- Producto en mal estado o vencido
- Aplicación a destiempo
- Presión inusual de inóculo.
- Resistencia

Tipos de Resistencia

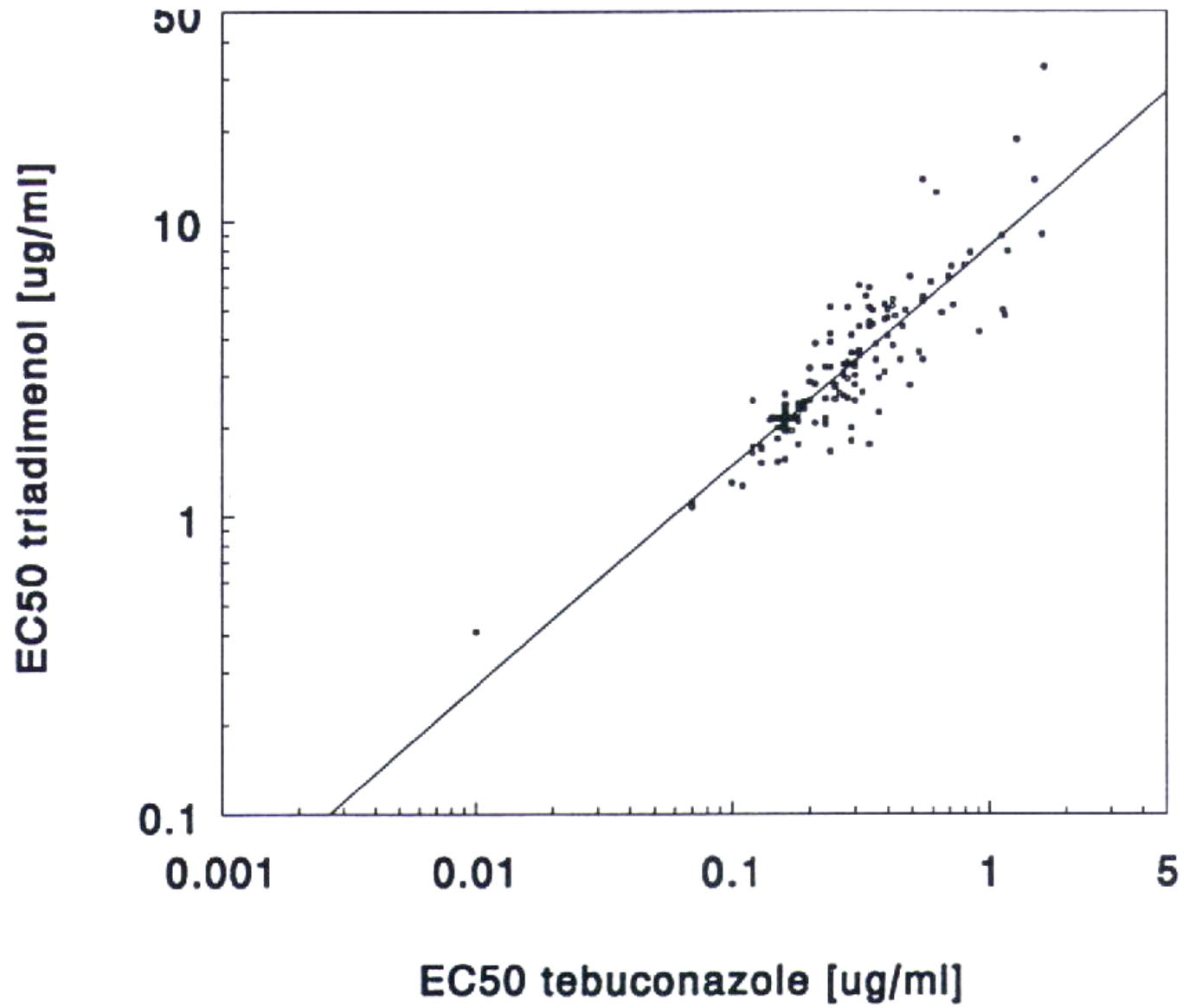
- Cualitativa
 - paso simple
 - discreta
 - disruptiva
 - discontinua

- Cuantitativa
 - pasos múltiples
 - continua
 - direccional
 - progresiva



Tipos de resistencia

- Resistencia Cruzada
- Resistencia cruzada negativa
- Resistencia múltiple



Origen de la resistencia

- **Fuerzas evolutivas:**
- **MUTACIÓN**
- **SELECCIÓN**

- **MUTACIÓN**

- Provee las fuentes de la resistencia

- **SELECCIÓN**

Determina la frecuencia en que se encontrarán los genotipos

Mutaciones

- La mutación que confiere resistencia puede existir en la población antes de que el fungicida comience a usarse.
- Ocurren continuamente en todos los organismos vivos
- Pueden ser inducidas en el laboratorio
- Lo típico es que ocurran en una frecuencia de 1 en 1000 000

- Ocurren en una frecuencia de 1×10^{-6}
- Esta frecuencia se hace mayor entre los sobrevivientes de una aplicación de fungicida.
- Cuando alcanza niveles de 1×10^{-2} o 1×10^{-1} aparecen los problemas.

- Debe existir una evolución desde los niveles existentes en la naturaleza hasta esos niveles que nos complican el control.
- Si el tratamiento es muy efectivo, la selección será muy rápida.
- Si el tratamiento es 80% efectivo después de cada tratamiento el número de variantes se concentrará cinco veces y la selección será lenta.

Deducciones

- Los resistentes se ven favorecidos por una alta frecuencia de los tratamientos.
- Por una efectiva aplicación o dosis.
- Por la alta población del patógeno previa.
- Por una gran producción de propágulos
- Por un menor tiempo de generación

Mecanismos de Resistencia

- **Alteración del sitio bioquímico de acción.**
- **Desarrollo de una vía metabólica alternativa.**
- **Degradación metabólica del fungicida.**
- **Exclusión o eliminación del fungicida.**

Alteración del sitio de acción.

- **Parece ser el mecanismo mas común**
- **Funciona contra fungicidas sitio de acción específicos.**
- **Una simple mutación en un gen es suficiente.**

Fungicida

Mecanismo de Resistencia

Hidrocarburos
aromáticos

Desconocido,
resistencia cruzada con
dicarboximidias.

Organo - mercuriales

Detoxificación

Dodine

Desconocido

Benzimidazoles

Alteración sitio acción.

- 2-amino pyrimidines Desconocido

- Kasugamicina Alteración sitio acción.

- Phosphorothiolates Detox. Metabólica.

- Triphenyltins Desconocido

- Phenylamides Alt. S. de A. (RNA polimerasa)

- **Dicarboximidas** **Desconocido**, resistencia cruzada con Hidrocarburos aromáticos.
- **IBEs** **Incremento de la eliminación**
A. del S. De A. Alteración de la
demanda de producto en el sitio de
acción. Sobre producción en el sitio
de acción.
- **Carboxanilides** **Alteración del sitio de acción.**

Monitoreo de la resistencia

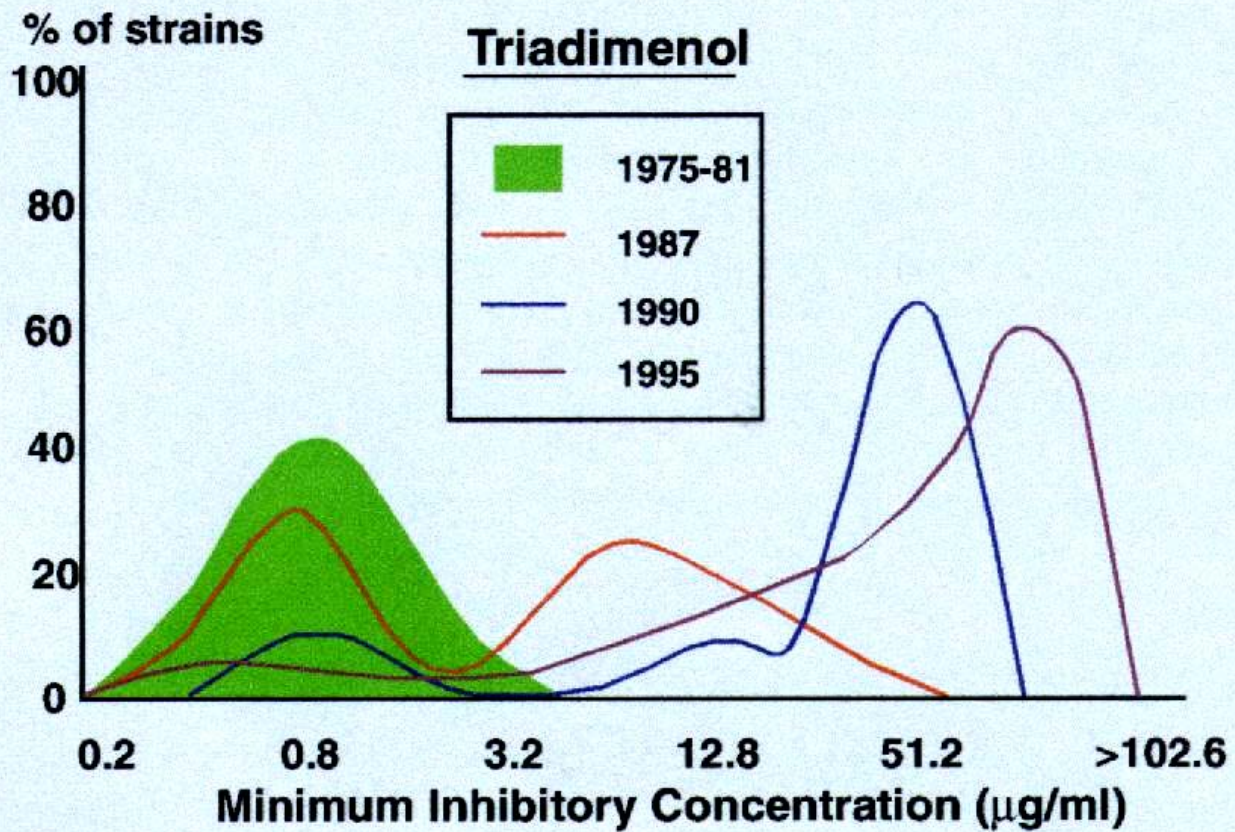
Se trata de la toma de muestras de la población de campo de un patógeno para medir el grado de sensibilidad a uno o más fungicidas.

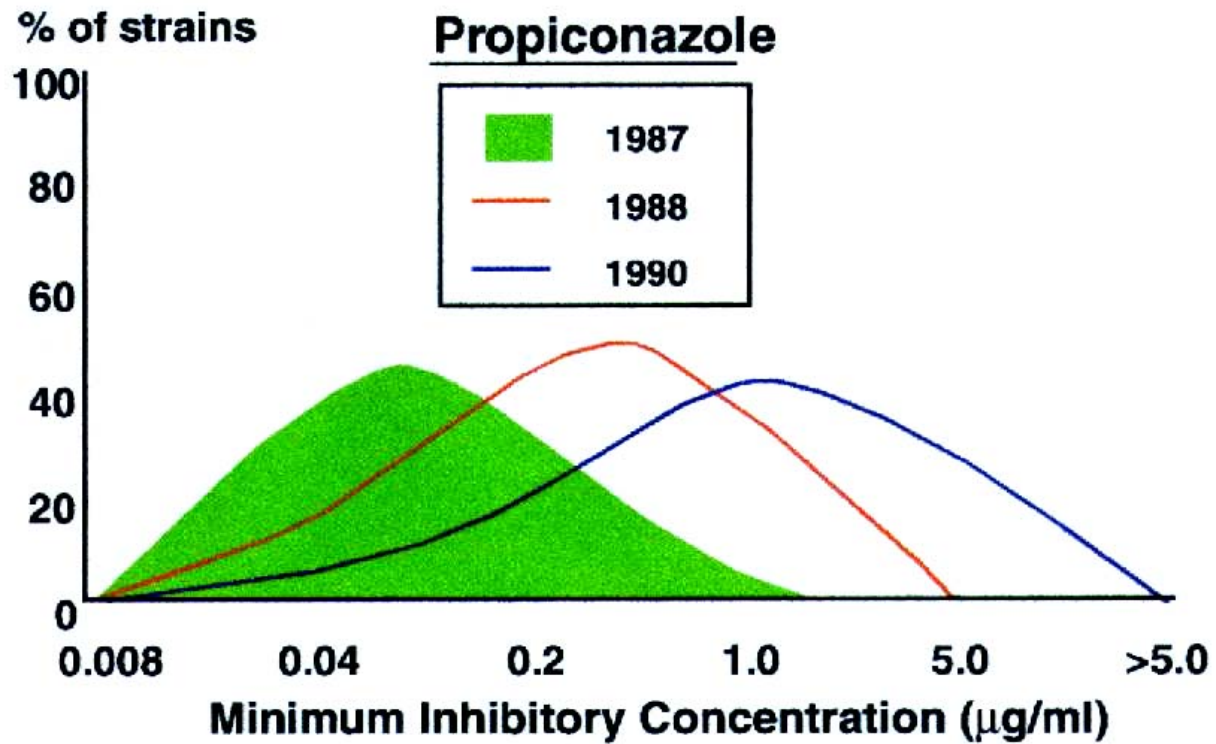
Monitoreo de la resistencia

- Debe ser realizado lo más temprano posible a efectos de poder tomar medidas para evitar la situación de resistencia.
- La resistencia monogénica solo es detectable cuando alcanza niveles mayores al 1%.
- $N = 300$ para detectar con 95% de confianza

Monitoreo de la resistencia

- Otro objetivo es analizar el funcionamiento de las estrategias de manejo antiresistencia.
- Es necesario realizar monitoreos periódicos.
- Grandes áreas en donde se aplica el producto.





Monitoreo de la resistencia

- Para investigar las causas de fallas en el control.
- Guiar con que producto realizar el próximo tratamiento.

Monitoreo de la resistencia

- Muchos monitoreos fracasan o quedan inconclusos por:
- No haberlos realizado tempranamente a fin de establecer la sensibilidad de base.
- No disponer de información de la efectividad de los tratamientos realizados.

Monitoreo de la resistencia

Son Vitales:

- El Momento en que se realiza el monitoreo
- La representatividad de la muestra.

Monitoreo de la resistencia

- Los métodos utilizados para testar resistencia deben ser: reales, cuantitativos, reproducibles y sus resultados fácilmente entendibles.
- FAO y FRAC han publicado métodos recomendados

Como evaluar el riesgo

Conocer el riesgo de generar resistencia ayudará a:

- saber si un producto puede ser desarrollado comercialmente o no.
- Que estrategias habrá que implementar para su uso.
- Que monitoreos deberán realizarse.

En primer lugar se debe estudiar la posibilidad de que el nuevo producto pueda tener resistencia cruzada con otros fungicidas en uso.

- La estructura química así como su modo de acción son fuertes indicadores de la posibilidad de resistencia cruzada.
- Testar al candidato frente a aislamientos de campo del patógeno que se sabe es resistente a otros fungicidas se realiza como rutina.

- El mecanismo de acción de un fungicida sirve de indicador de riesgo.
- La facilidad para mutar que tiene el patógeno también es un indicador del riesgo para el nuevo fungicida.
 - tratamiento con mutagénicos químicos
 - Tratamientos con UV.
- Exponer al hongo a conc. subletales del fungicida.

- El potencial de mutación por resistencia a un fungicida en particular depende menos del tipo de género o especie de hongo que del fungicida. “Riesgo inherente o asociado al fungicida”
- El riesgo de selección de esos mutantes depende más del tipo de enfermedad que del fungicida.”Riesgo inherente o asociado a la enfermedad”

Riesgo inherente o asociado al fungicida:

- Clase a la que pertenece el fungicida
- Sitio de acción (unisitio o multisitio)
- Resistencia cruzada.
- Respuesta a agentes mutagénicos (competitividad de los mutantes)
- Respuesta a la recombinación sexual.
- Respuesta a la repetida aplicación del fungicida


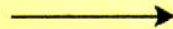
Riesgo inherente o asociado a la enfermedad:

- Corto ciclo de vida
- abundante esporulación del patógeno
- Aislamiento de la población
- Presencia de reproducción sexual

También se asocia con:

- alto número de aplicaciones.
- extensa área tratada con el fungicida.

Combined risk: 1 = low, 2-6 = medium, 9 = high

benzimidazoles dicarboximides phenylamides	h i g h (3)	3	6	9
carboxanilides DMIs phosphorothiolates anilinopyrimidines phenylpyrroles strobilurins	m e d i u m (2)	2	4	6
coppers dithiocarbamates melanin inhibitors phthalimides sulphur SAR-inducers	l o w (1)	1	2	3
basic fungicide risk 	basic disease risk 	low (1)	medium (2)	high (3)
		seed-borne (eg. Pyrenophora, Ustilago) soil-borne (eg. Phytophthora), cereal eyespot cereal rust rice sheath blight	barley Rhynchosporium wheat Septoria	apple scab banana Sigatoka, cereal powdery mildew, grape Botrytis, potato blight, citrus Penicillium, rice blast

Estrategias de manejo

1) No aplicar el fungicida en forma aislada.

- Aplicar mezclas de fungicidas de modos de acción diferentes
- Aplicar el fungicida en rotaciones o alternándolo con otros de modos de acción diferentes

2) Reducir el número de aplicaciones por temporada. Aplicar sólo cuando sea estrictamente necesario

Problemas:

- Las aplicaciones pueden coincidir con los momentos o estados de desarrollo de la epidemia (alta presión de selección)
- La reducción en la resistencia puede no ser proporcional a la reducción de las aplicaciones.

3) Utilizar las dosis recomendadas.

La dosis a utilizar depende del tipo de resistencia (Cualitativa o cuantitativa)

4) Evitar las aplicaciones erradicantes.

Ej. Las acilalaninas se recomienda no usarlas en aplicaciones erradicantes aunque se formulan mezcladas con fungicidas de contacto.

5) Integrar la aplicación de fungicidas en programas IPM.

- Esta es considerada la mejor estrategia para prevenir el desarrollo de resistencia

Estrategia para el manejo de la selección de genotipos resistentes a fungicidas :

- Reducir los rangos de crecimiento de sensibles y de resistentes**
- Reducir el crecimiento de los resistentes más que de los sensibles.**

benzimidazoles

- Monitoreos de resistencia
- Aplicaciones alternadas con otros fungicidas de diferente sitio de acción
- Mezcla con diethofencarb para controlar *Botrytis* en uvas.

phenylamides

- Usar solamente en aplicaciones preventivas
- Limitar las aplicaciones a 2 a 4 por año
- usarlo temprano en la estación de crecimiento.
- No usarlo en cultivos semilleros o viveros.

Dicarboximidias

- No aplicar más de 2 a 3 veces por año
- Guardar las aplicaciones para aquellos momentos en que la presión de infección es alta.
- Dejar prolongados períodos sin presión de selección.

IBE

- No utilizar más de 3 aplicaciones al año
- Usar mezclado con fungicidas de diferente sitio de acción
- No usar dosis reducidas
- Usar otras medidas (IPM)

Estobirulinas

- Deben ser usadas preventivamente
- Aplicadas a las dosis recomendadas
- No se debe superar el 30% a 50% del total de aplicaciones en la temporada
- Deben usarse en bloques de 1 a 3 aplicaciones
- Entre bloques deben pasar 2 aplicaciones

Perspectivas

- El desarrollo de nuevos productos deberá estar acompañado de estudios de medición de riesgo de resistencia.
- Hace falta generar el conocimiento acerca de los factores que determinan el desarrollo de la resistencia.
- Métodos de detección de genes en el campo en estados tempranos.
- Es necesario seguir discutiendo acerca de las estrategias.