



MIP 2.0 para el control sostenible del tizón tardío de la papa en Argentina

Florencia Lucca, Andrea F. Puebla, Guido M. Cabarro

Laboratorio de Micología y Bacteriología de Papa, EEA INTA Balcarce

Andrea F. Puebla

Unidad de Genómica, Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA Castelar

Guido M. Cabarro

Facultad de Ciencias Agrarias Balcarce, Universidad Nacional de Mar del Plata.

Proponemos transitar un camino que ofrece las últimas herramientas para combatir la enfermedad más importante del cultivo de papa, *Phytophthora infestans* desde el enfoque de Manejo integrado de plagas



Fotografías: Florencia Lucca

Figura 1 | Síntomas de tizón tardío de la papa. a – b) en hojas, c) tallo y d) tubérculos.



P*hytophthora infestans* es el agente causal del tizón tardío, la enfermedad más importante del cultivo de papa en todo el mundo. Es responsable de cuantiosas pérdidas al año por reducción en el rendimiento de los cultivos y por costos en las medidas de control de la enfermedad. Se han cuantificado las pérdidas globales anuales en torno a los € 9,4 mil millones, englobando a países en desarrollo y desarrollados (Haverkort *et al.*, 2016). En Argentina, la enfermedad también causa graves pérdidas económicas, de rendimiento y de calidad (Caldiz, 2007; Mantecón, 2009).

P. infestans puede atacar al cultivo en cualquier estado de desarrollo, afectando hojas, tallos y tubérculos (Figura 1). El patógeno puede dispersarse rápidamente y abarcar grandes superficies cuando las condiciones climáticas son favorables (Secor, 2003). En la década del 90 esta enfermedad causó epifitias en numerosos sistemas productivos, debido principalmente a migraciones y cambios en las características de las poblaciones del patógeno en diferentes territorios e incluso entre continentes (Andrison *et al.*, 2011; Fry *et al.*, 2015; Fry, 2016). Fry y colaboradores en una revisión hecha sobre *P. infestans* exploraron varias características que hacen

que este oomicete y su enfermedad demandan una atención constante (Fry *et al.*, 2015). El mundo científico entiende que la cooperación es un factor clave para solucionar este problema mundial, y en tal sentido se han formado redes de colaboración para promover la cooperación regional en torno a la enfermedad. Estas iniciativas las vemos en Europa (EuroBlight), Estados Unidos (USABlight), América Latina (Tizón Latino) y la más reciente iniciativa en Asia (AsiaBlight).

El tizón tardío se controla principalmente mediante aplicaciones frecuentes de fungicidas. En muchas áreas del

mundo, el cultivo no puede cultivarse sin su aplicación frecuente.

Las poblaciones de *P. infestans* en todo el mundo están en proceso de cambio, siendo éstos muy rápidos y repentinos a través de la emergencia y migración sucesiva de nuevas líneas clonales. Asimismo, la dispersión de nuevos genotipos se ve favorecida por la creciente globalización del comercio y el cambio climático.

La industria y los consumidores demandan el desarrollo de estrategias que aprovechen al máximo opciones alternativas para una protección más sostenible de los cultivos y una mejor administración de los fungicidas. Para ser sostenibles y adoptadas, estas estrategias deben adaptarse a la cambiante población y su rápida evolución, esto incluye un manejo integrado de la enfermedad, que supone que las poblaciones de *P. infestans* sean monitoreadas tanto a nivel de genotipos como de fenotipos (virulencia, agresividad, sensibilidad a los fungicidas, etc). Este concepto es lo que denominamos MIP 2.0.

La inestabilidad genética de sus poblaciones es una de las razones por las que *P. infestans* es tan difícil de controlar y pone en peligro el desarrollo de cultivares resistentes duraderos y el manejo sustentable de fungicidas.

Los marcadores moleculares permiten documentar estos cambios, complementados con estudios de agresividad de los genotipos, genes efectores, sensibilidad a fungicidas, entre otros. En Argentina, los primeros abordajes genotípicos y fenotípicos de las poblaciones más recientes de *P. infestans* han mostrado un cambio en la dinámica poblacional respecto de los reportado a finales de los 90 (Lucca y Huarte, 2014).

El monitoreo de las poblaciones de *P. infestans* (vigilancia epidemiológica) proporciona información sobre los cambios en la población de patógenos. También permite identificar las adaptaciones en las poblaciones, detectando nuevos genotipos más virulentos o resistentes a fungicidas. Esta información puede ser empleada directamente para adaptar o modificar estrategias de control, acoplando la epidemiología a la toma de decisiones.

En Argentina, los sistemas de apoyo a la toma de decisiones, tales como PhytoAlert, juegan un papel

Figura 2 | Sistema de muestreo en tarjetas FTA utilizado para la colección, transporte y conservación de hojas de papa con lesiones de *P. infestans*. La tarjeta FTA original se subdivide en dos, quedando dos zonas de muestreo (1 y 2) por muestra de *P. infestans* colectada.

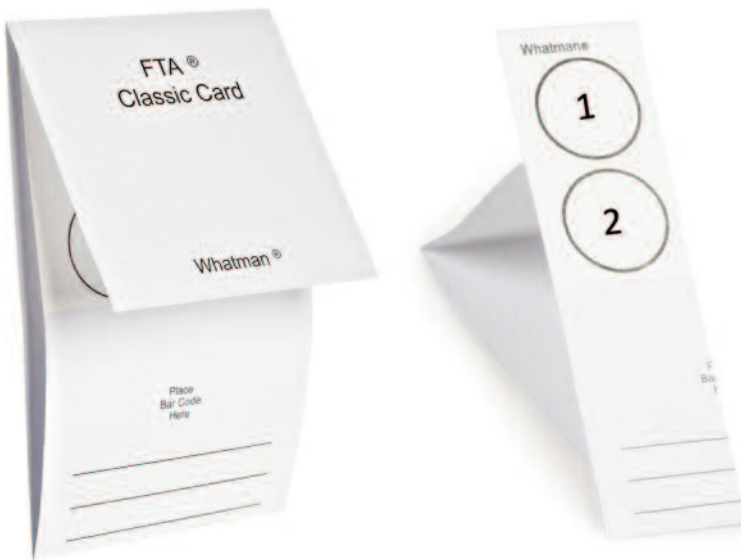


Figura 3 | Metodología de monitoreo de poblaciones de *P. infestans* a campo utilizando tarjetas de muestreo FTA.



MIP 2.0

Identificar adaptaciones en las poblaciones de *O. infestans* (sensibilidad a fungicidas) puede ser utilizada para modificar estrategias de control, acoplando la epidemiología con el apoyo a la toma de decisiones.

cada vez más importante en un sector de papa avanza en forma constante, con el fin de contribuir a mejorar la sostenibilidad local y global del cultivo de papa. Contribuyendo en las decisiones de los productores no solo en términos de control de enfermedades, sino también en términos de los efectos secundarios de los fungicidas en la salud humana y el medio ambiente.

Monitoreo de *P. infestans* con tarjetas FTA

El monitoreo de las poblaciones del patógeno nos permite conocer la estructura de la población de *P. infestans* presente en Argentina, en cada una de las zonas productoras de papa. Para ello utilizamos tarjetas de muestreo FTA (Flinders Technology Associates, Whatman® Internacional Ltd., Reino Unido). Las tarjetas FTA contienen productos químicos en su composición que lisan las células, desnaturalizan las proteínas y protegen a los ácidos nucleicos de las nucleasas, la oxidación y los daños causados por radiación UV.

El monitoreo se realiza con tarjetas de muestreo FTA. Se colectan hojas (o eventualmente tallos) que presenten

lesiones frescas y bien esporuladas del patógeno. Sobre cada área de muestreo (círculos delimitados 1 y 2) (Figura 2) se imprime la lesión, haciendo coincidir la cara abaxial de la hoja de papa sobre la tarjeta. Tras ejercer presión, la lesión se adhiere a la matriz de papel de la tarjeta.

Las tarjetas FTA permiten coleccionar, transportar y preservar de forma segura *P. infestans* hasta el laboratorio de alta complejidad donde se llevan a cabo los estudios genómicos. Se conservan a temperatura ambiente, sin costos de almacenamiento ni condiciones especiales durante el traslado. Cada tarjeta viene acompañada de un formulario de muestreo que reúne información relevante para el análisis posterior de las poblaciones de *P. infestans* tales como: fecha de muestreo, datos de contacto de quien tomó la muestra y georreferencias del lote muestreado (para realizar un mapa poblacional de *P. infestans*). Información sobre aplicaciones químicas previas también son incluidas, ya que puede ser útil para la trazabilidad de nuevas líneas clonales y para el diseño de estudios de sensibilidad a fungicidas (Figura 3).

Caracterización genotípica de aislamientos de *P. infestans*

En el INTA, en un trabajo conjunto del Laboratorio de Micología y Bacteriología de Papa de la EEA Balcarce y la Unidad de Genómica del Instituto de Biotecnología del CICVyA, INTA Castelar genotificamos aislamientos de *P. infestans* mediante una reacción multiplexada de 12 marcadores moleculares microsatélites (SSR) siguiendo la metodología propuesta por Li y colaboradores (2013), que se complementó con el muestreo en campo con tarjetas FTA (Figura 4).

Estos estudios mostraron que desde 2007, la población está dominada por la línea clonal EU_2_A1, diferente a la reportada a finales de los 90 (Forbes *et al.*, 1998). Como parte de las actividades de Coordinación de la Genotipificación de la Red Tizón Latino, estudios genómicos posteriores que realizados con aislamientos de *P. infestans* de Chile y Brasil mostraron la dominancia de esta misma línea clonal en sus poblaciones. Sin embargo, se observaron variaciones alélicas para



JUAN LEONCIO
IRIBERRI SCA
CEREALES E INSUMOS

Ruta 86 N° 4155 - Necochea
Tel. (02262) 43-3490
www.triberri.com.ar



FONTANA
CONSIGNATARIOS

REMATES ESPECIALES DE TOROS/VIENTRES
REMATES HACIENDAS GENERALES
VENTAS DIRECTAS/COMPRA A FUTURO
COMPRA/VENTA/ALQUILERES DE CAMPOS

02266 15 547175/677562/548758
AV. FAVALORO N°840 , BALCARCE



RIVERO HNOS | CONSTRUCTORA

IOBRAS CIVILES, PÚBLICAS, CONSTRUCCIÓN DE VIVIENDAS Y MÁS!

📍 CALLE 5 NUMERO 620 PISO 1
📞 TEL: 02266 15539271
02266 15481072
✉ RIVEROHNOS.CONSTRUCCIONES@GMAIL.COM
📷 RIVEROHNOS

algunos de los 12 marcadores utilizados que permiten diferenciar la procedencia de los aislamientos según el país de origen (Figura 5).

La línea clonal EU_2_A1 fue descrita en Europa a principios de los 80 (Cooke *et al.*, 2012), presentándose en la actualidad en baja proporción en esa región (Potato blight tracking in Europe, 2019, del sitio www.euroblight.net).

Estudiar las poblaciones de manera conjunta y no aisladamente, permitirá conocer como es la evolución del patógeno y poder así trabajar mancomunadamente en estrategias de mitigación de la enfermedad más eficientes y sostenibles.

Caracterización fenotípica de aislamientos de *P. infestans* – Sensibilidad a fungicidas

Estudios de sensibilidad a fungicidas de aislamientos de *P. infestans* fueron llevadas adelante en Wageningen University and Research (WUR) (Holanda). En una publicación recientemente (Schepers *et al.*, 2018) informamos por primera vez que la línea clonal EU_33_A2 y la EU_37_A2 presentaban una menor sensibilidad al fluazinam. Fluazinam es un fungicida ampliamente utilizado en el manejo integrado de plagas para controlar el tizón tardío.

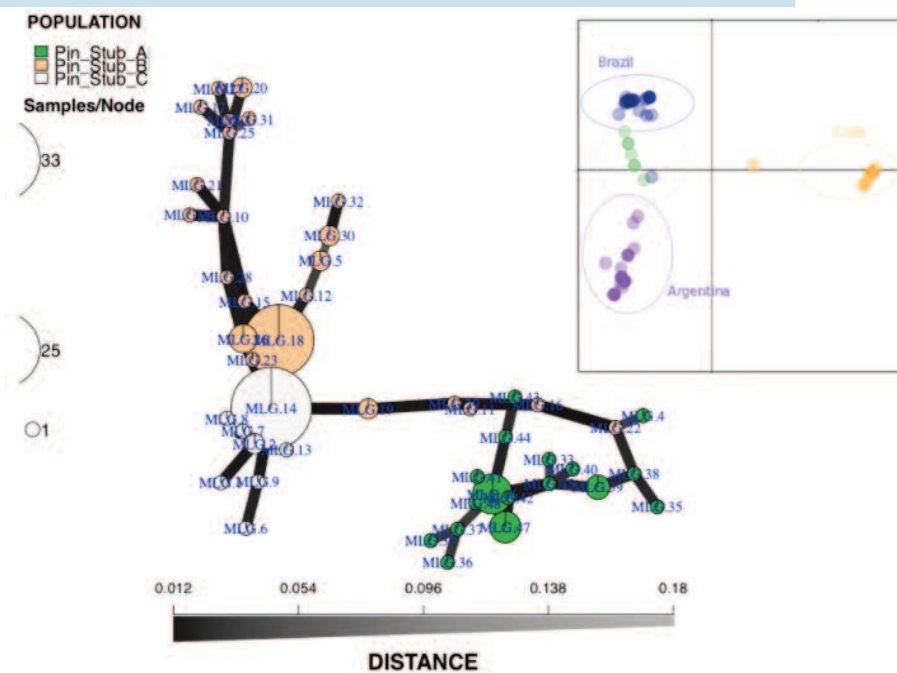
En Argentina y Latinoamérica se necesitan avanzar con estudios de sensibilidad a fungicidas, ya que es importante conocer si genotipos emergentes son también más difíciles de controlar utilizando determinados fungicidas en campos de producción.

En tal sentido, hemos realizados estudios preliminares sobre la sensibilidad a tres formulaciones de fungicidas realizados en WUR en el marco del Proyecto Fontagro ATN/RF 16678-RG Implementación de un sistema de alerta temprana para un manejo preventivo sustentable del Tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans*),

Figura 4 | Caracterización genotípica de *P. infestans* a partir de tarjetas de muestreo FTA. Estudios genómicos llevados a cabo en la Unidad de Genómica del Instituto de Biotecnología del CICVyA, INTA Castelar.



Figura 5 | Análisis de diversidad genética de poblaciones de Argentina, Brasil y Chile (2017-2018).



como medida de adaptación frente a la variabilidad del cambio climático en Latinoamérica (Figura 5).

Se probó el efecto curativo de tres fungicidas: Acrobat, Infinito y Acrobat aplicados a las 6, 24 y 48 hs post-inoculación. Estos estudios muestran que

la acción curativa de Acrobat a las 6hs se ve disminuida en todos los genotipos de *P. infestans* evaluados. Esta tendencia se ve aún más marcada a las 24 y 48 horas post-inoculación. Asimismo, se observa una menor sensibilidad a fungicida Infinito (propamocarb HCL + fluopicolide) en genotipos particulares evaluados. (Figura 6).

Se deben discutir más profundamente las consecuencias de estos hallazgos preliminares en relación a las poblaciones de *P. infestans* de Argentina y los efectos potenciales

Patógeno

La inestabilidad genética de sus poblaciones es una de las razones por las que *P. infestans* es tan difícil de controlar.

sobre las estrategias de control. Estos estudios se continuarán con otros fungicidas de acción preventiva, curativa y erradicante.

PhytoAlert

PhytoAlert es un sistema de apoyo a la toma de decisiones o DSS (por las siglas en inglés de *Decision Support System*) que desarrollamos en INTA para el control del tizón tardío. En un trabajo conjunto con McCain Argentina S.A., WUR (Holanda) y el Grupo de Investigación "Economía Agraria" de la FCEyS-UNMdP validamos PhytoAlert en el sudeste de la Provincia de Buenos Aires durante cuatro temporadas consecutivas de cultivo (2010/11 a 2013/14) por su eficacia de control de la enfermedad en comparación con un programa tradicional de aplicación calendario (aplicado de rutina). En esta validación también se evaluaron y compararon los costos de producción y el impacto ambiental. Los resultados de las pruebas de campo mostraron que, en comparación con el programa tradicional de aplicación de calendario, PhytoAlert permitió reducir el uso de fungicidas hasta un 50%; generó un

Figura 6 | Caracterización fenotípica de *P. infestans*. Estudios de sensibilidad a fungicidas.

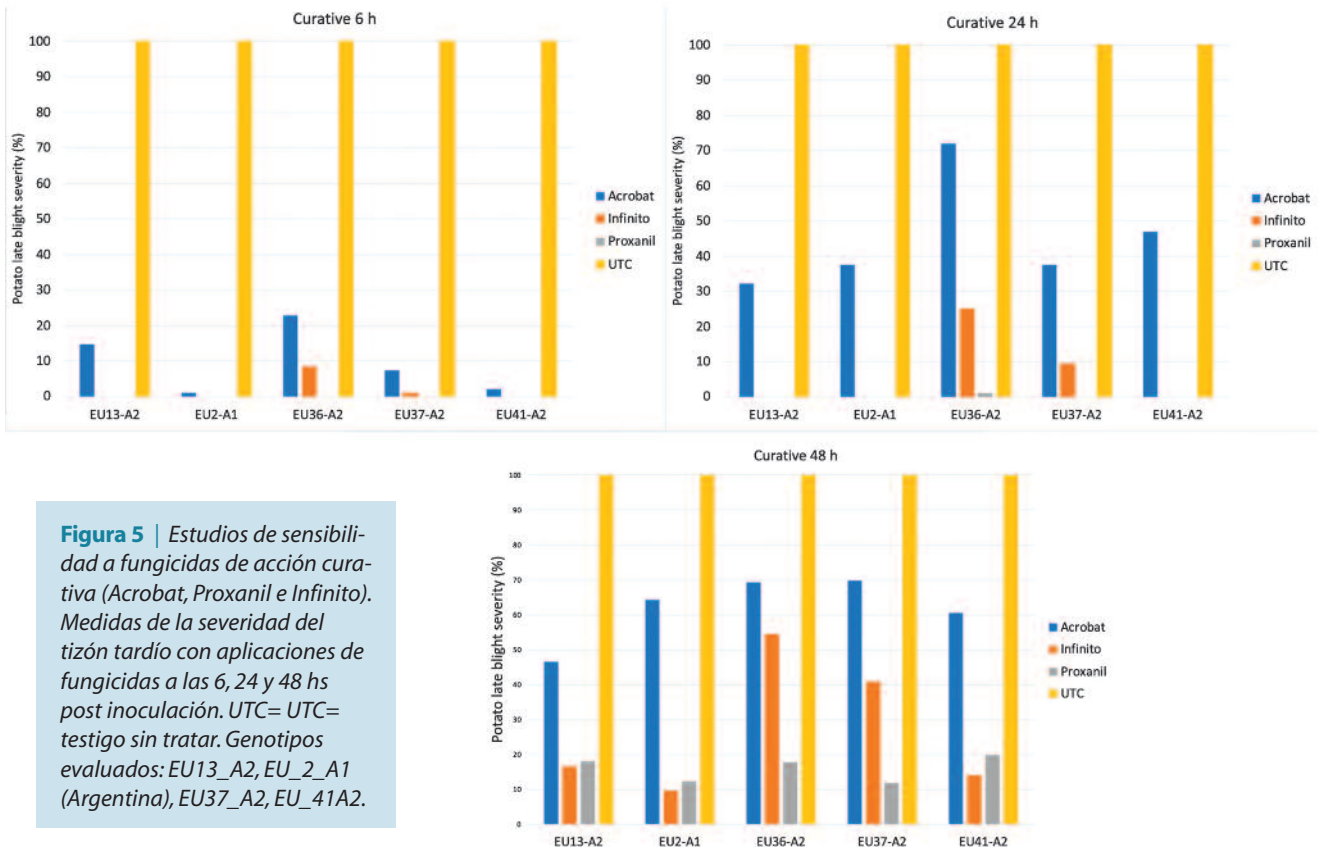
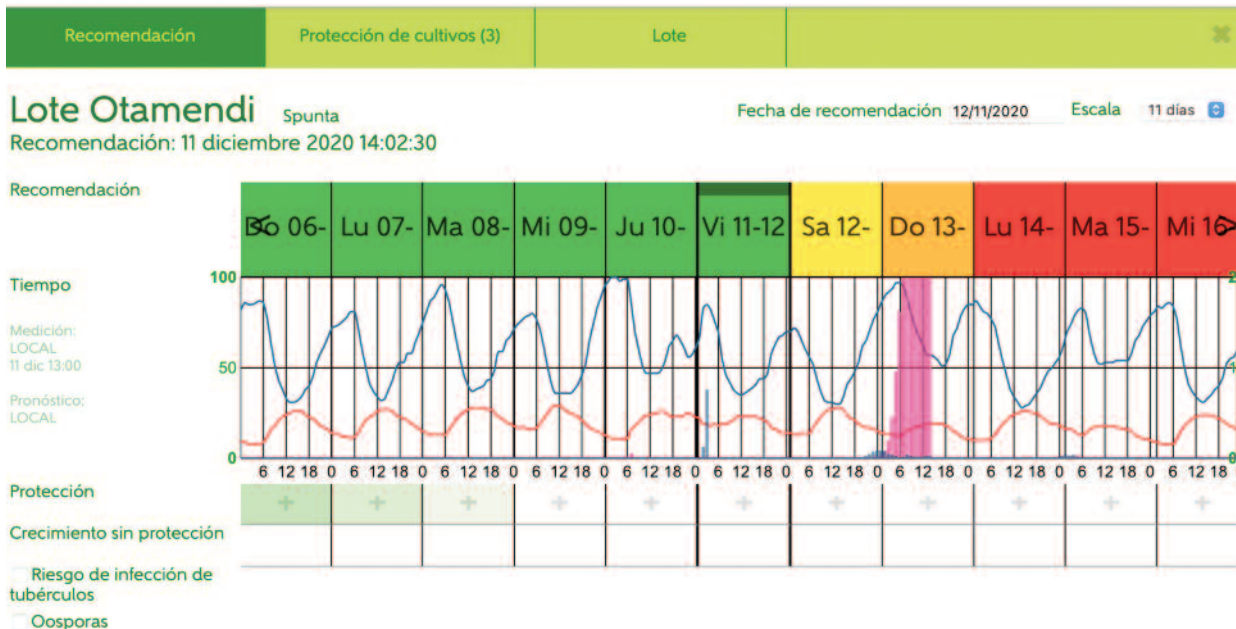


Figura 5 | Estudios de sensibilidad a fungicidas de acción curativa (Acrobat, Proxanil e Infinito). Medidas de la severidad del tizón tardío con aplicaciones de fungicidas a las 6, 24 y 48 hs post inoculación. UTC= UTC= testigo sin tratar. Genotipos evaluados: EU13_A2, EU_2_A1 (Argentina), EU37_A2, EU_41A2.

Figura 8 | Ejemplo de salidas gráficas de PhytoAlert de un lote de papa ubicado en Otamendi en la campaña 2020-21. Las líneas azules muestran la humedad relativa, las líneas rojas, la temperatura, las barras azules la lluvia /riego y las barras rosas el riesgo de tizón. En la barra de las fechas, el color verde indica que no es necesario realizar una aplicación de fungicidas, el color amarillo sugiere la aplicación de un fungicida de acción preventiva, el color naranja recomienda la aplicación de un fungicida curativo y en color rojo indica que se deben emplear fungicidas con acción erradicante para poder controlar la enfermedad.



ahorro económico en el rango del 7.8 al 47.3% por hectárea (según el año y la presión de la enfermedad) y redujo el impacto ambiental hasta en un 48%.

PhytoAlert emplea información meteorológica (registros y pronóstico) de bases de datos mundiales para determinar los momentos críticos para el desarrollo del tizón. El sistema además incluye la degradación de los fungicidas. PhytoAlert distingue las aplicaciones previas de la infección (fungicidas preventivos), las aplicaciones hasta 2 días después del período crítico (fungicidas curativos) y las aplicaciones más de 2 días después al inicio del período crítico (fungicidas erradicantes). Idealmente se busca con PhytoAlert realizar aplicaciones preventivas, antes de los eventos de infección previstos.

Asimismo, realizamos un estudio de escenarios con conjuntos de datos meteorológicos plurianuales para las principales regiones productoras de papa de Argentina para analizar los requerimientos mínimos de fungicidas y la contribución de PhytoAlert para una producción de papa más rentable y sostenible. Los resultados de este

estudio demuestran que PhytoAlert DSS podría ser una herramienta muy poderosa para su implementación en las diferentes regiones productoras de papa de Argentina, requiriendo una validación local para realizar ajustes en los umbrales de riesgo (de ser necesario) y para aumentar la confianza de los productores en la utilidad del sistema.

Actualmente PhytoAlert está siendo validado en otras zonas de producción de papa de Argentina con éxito, como las provincias de Tucumán y Córdoba. También funcionó de forma muy efectiva en campos de China, en un trabajo conjunto con la firma Lamb Weston. Los lotes vecinos a los validados mostraron alta incidencia de la enfermedad durante el ciclo del cultivo y tubérculos con pudriciones a la cosecha. Los lotes que siguieron las recomendaciones de PhytoAlert no se vieron afectados por el tizón tardío y pudieron ser almacenados sin problemas, mientras que los lotes vecinos no pudieron ser almacenados por la presencia tubérculos con pudriciones debidas al tizón.

El desafío que tenemos por delante es capturar la mayor variación genotípica como sea posible mediante

el muestreo con tarjetas FTA en campos de Argentina en el marco de un programa de monitoreo de varios años y múltiples ubicaciones, así como avanzar en los estudios de sensibilidad a fungicidas preventivos, curativos y erradicantes. Esto nos permitirá adaptar PhytoAlert para asistir al productor no sólo en la identificación de los momentos críticos para el desarrollo del tizón, sino también en la selección del fungicida más adecuado para el control del tizón tardío.

Los invitamos a sumarse al monitoreo de *P. infestans* con tarjetas de muestreo FTA, para seguir examinando en forma continua la evolución de la población argentina del patógeno causante del tizón tardío de la papa. Para dudas o consultas referidas al muestreo y/o envío de las tarjetas FTA así como sobre el sistema de alertas tempranas PhytoAlert, póngase en contacto con Florencia Lucca luc.florence@inta.gob.ar o bien comuníquese al Laboratorio de Micología y Bacteriología de Papa de la EEA INTA Balcarce: +54 2266 439100 int. 283.

