

Mecanismos de resistencia a fungicidas en Sigatoka negra y perspectivas futuras para su manejo y control

Pablo Chong Aguirre. PhD.

Contenido

- Mecanismos de resistencia
- Caso Triazoles
- Perspectivas futuras de monitoreo y control



Problema fitosanitario



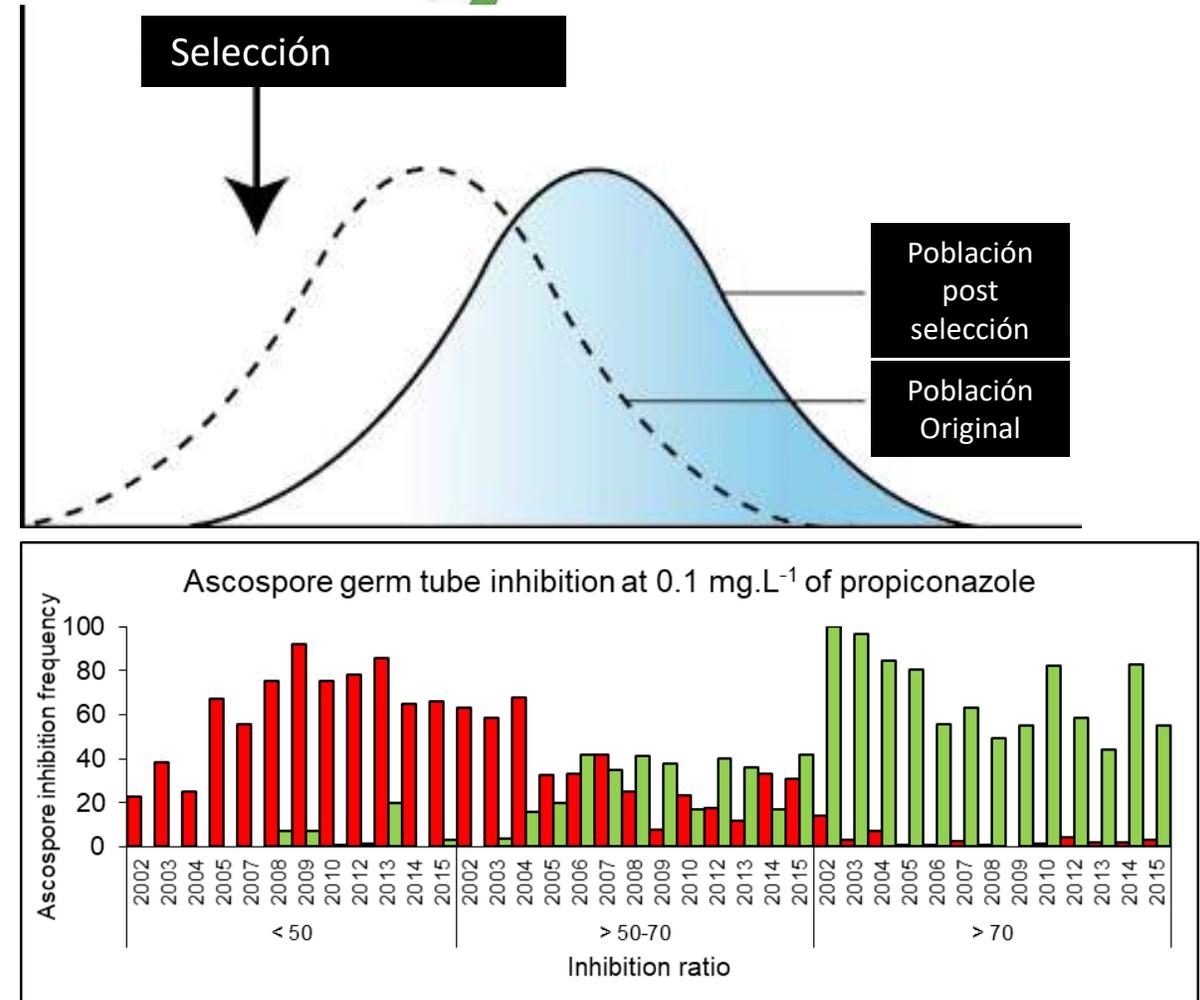
➤ *Pseudocercospora fijiensis*

- Alta recombinación sexual
- Control (30% costo de producción)
 - Monitoreo de la enfermedad
 - Predicción (forecasting, efectivo si existe estación seca)
 - Aplicación de fungicidas
 - Calendario
 - Prácticas culturales (cirugía y deshoje)
 - Hojas en el suelo pueden descargar esporas



Conceptos básicos

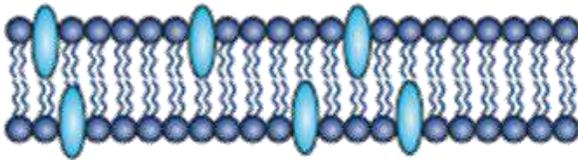
- Problema poblacional (herencia)
 - Monogénico (cualitativa)
 - Poligénico (cuantitativa)
- Recombinación y dispersión de alelos resistentes
- Robustez individual o “Fitness”



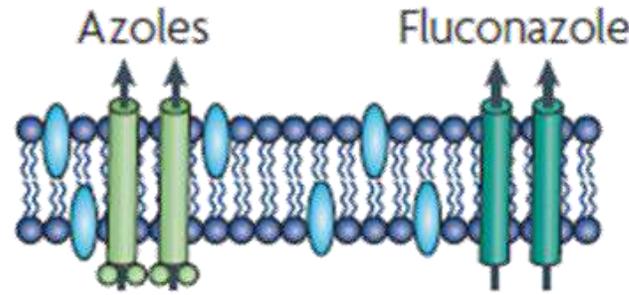
Monitoreo propiconazole 2002 a 2015. Hacienda San Pablo, Limon, Costa Rica. Cortesía de Corvana, 2016.

Mecanismos de resistencia

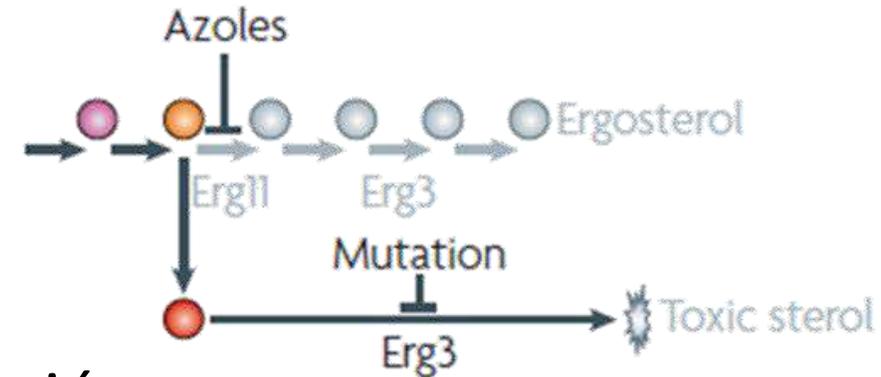
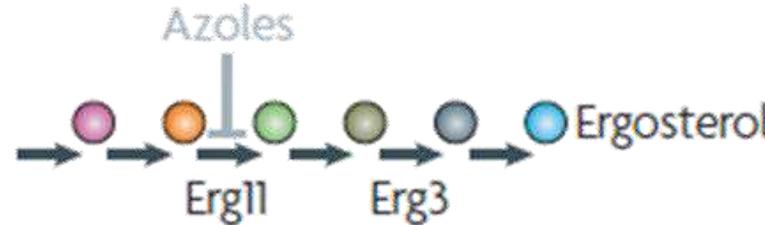
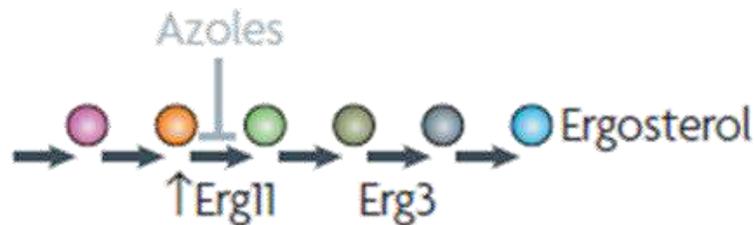
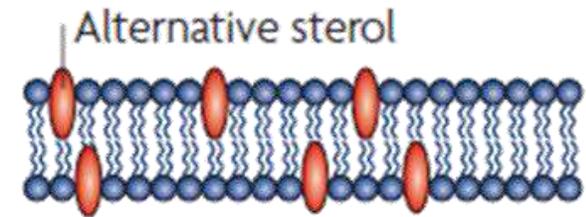
Target alteration or overexpression



Pump overexpression



Erg3 loss of function



➤ Mutaciones

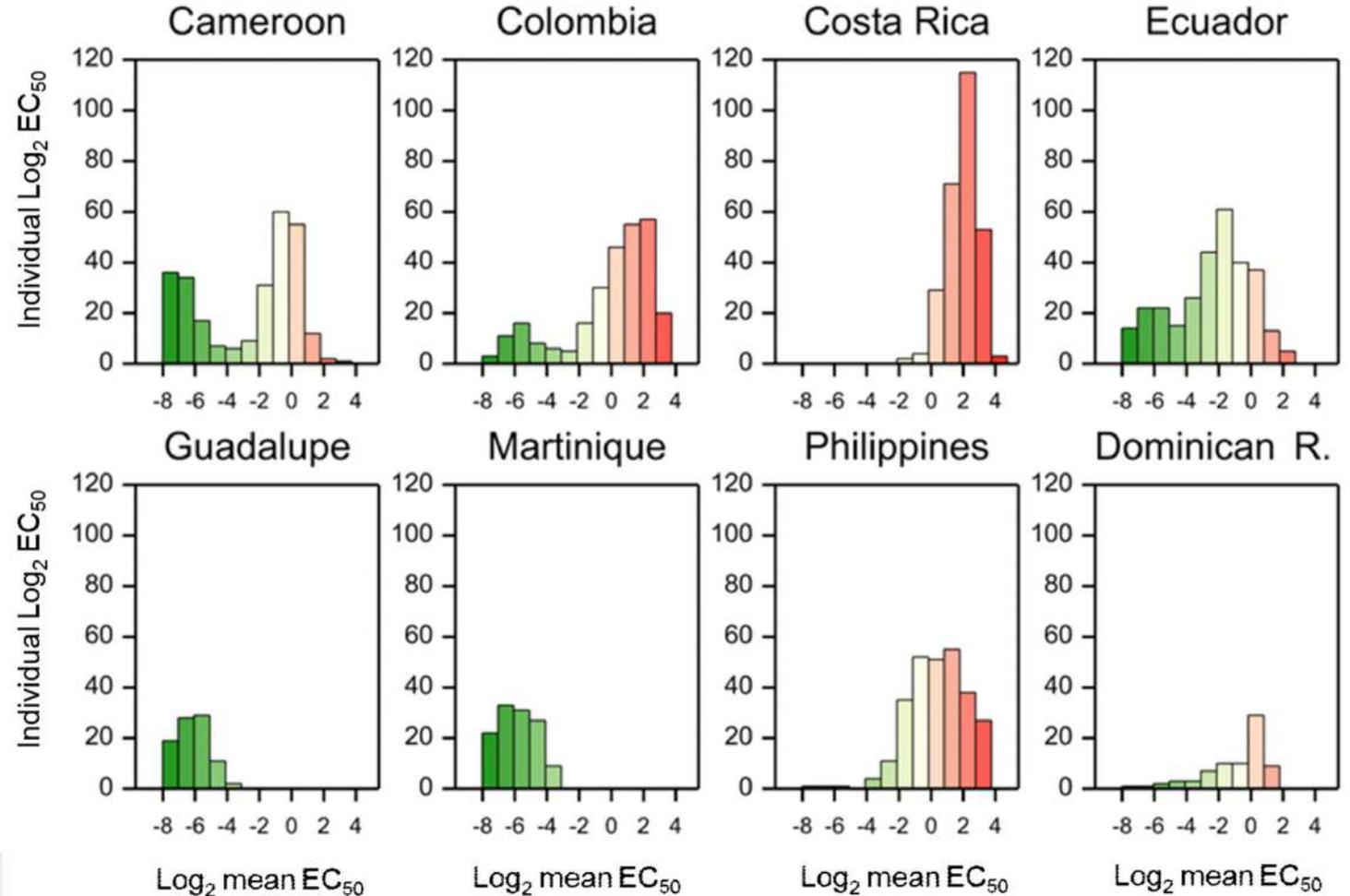
➤ Sobre expresión

➤ Detoxificación

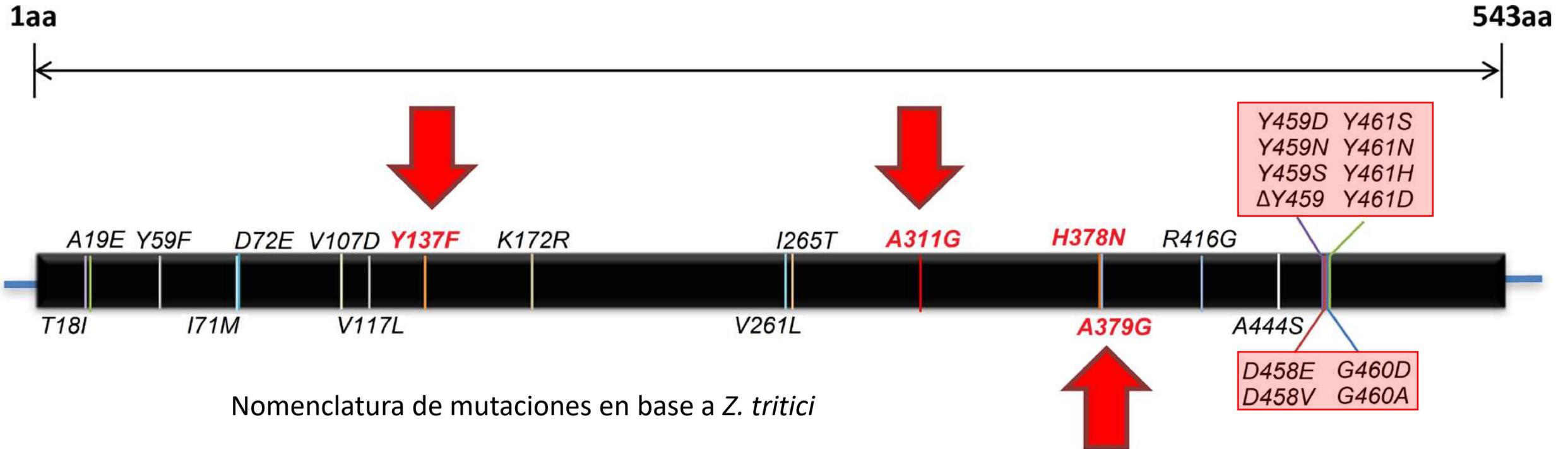
➤ Rutas metabólicas alternas

RESISTENCIA A FUNGICIDAS TRIAZOLES

- Rangos: 0,001 a 10,1 mg/L
- Camerún, 4473 mm
- Colombia, 840 mm
- Costa Rica, 3624 – 6664 mm
- Ecuador, 900 – 2500 mm
- Filipinas 1666 mm
- Guadalupe, 594 mm
- Martinica, 1109 mm
- Rep. Dominicana, 1500 mm

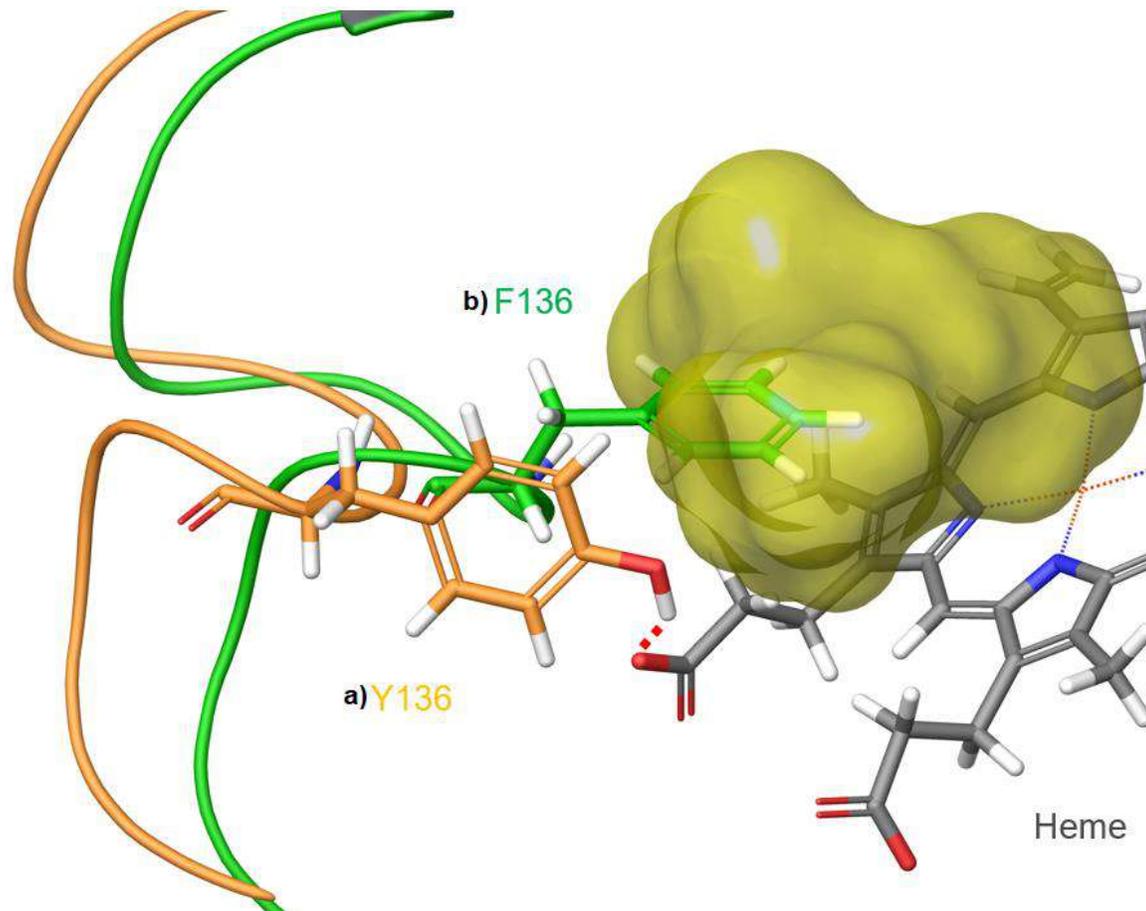


Mutaciones en el CYP51



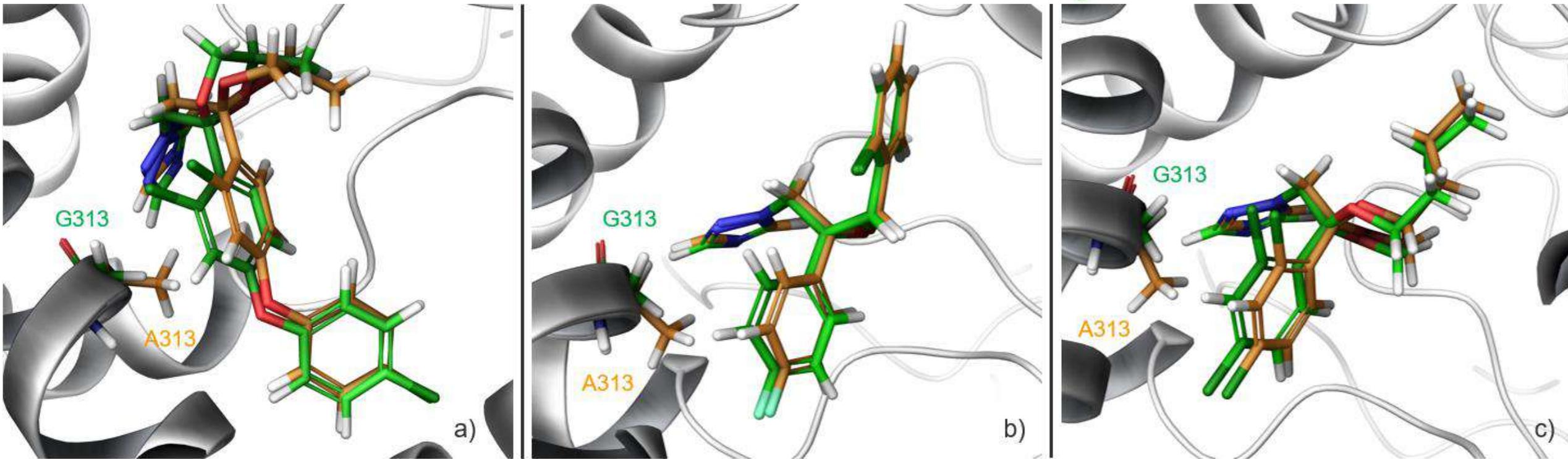
Flechas en rojo: Sustituciones
en el centro activo

Mutación Y136F



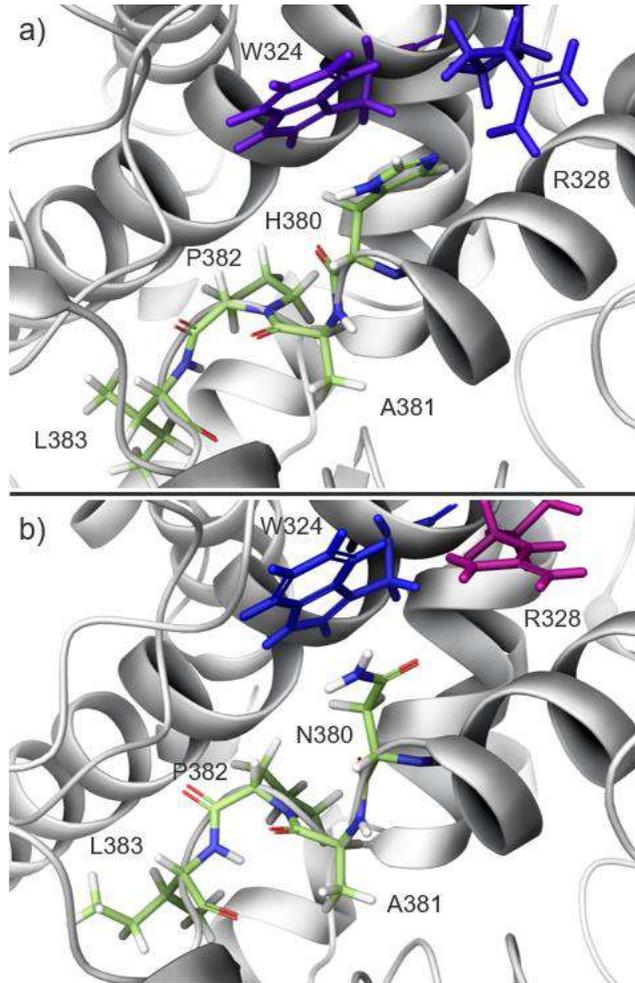
(a) Interacción de la posición Y136 del PfCYP51 (naranja) y el propionato del grupo hemo. (b) Tras la mutación, F136 (verde) se libera del propionato, provocando un cambio conformacional del bucle 130-140 que lleva a F136 a reorientarse y ocupar parte del sitio activo de los triazoles, representado como superficie amarilla.

Mutación A313G

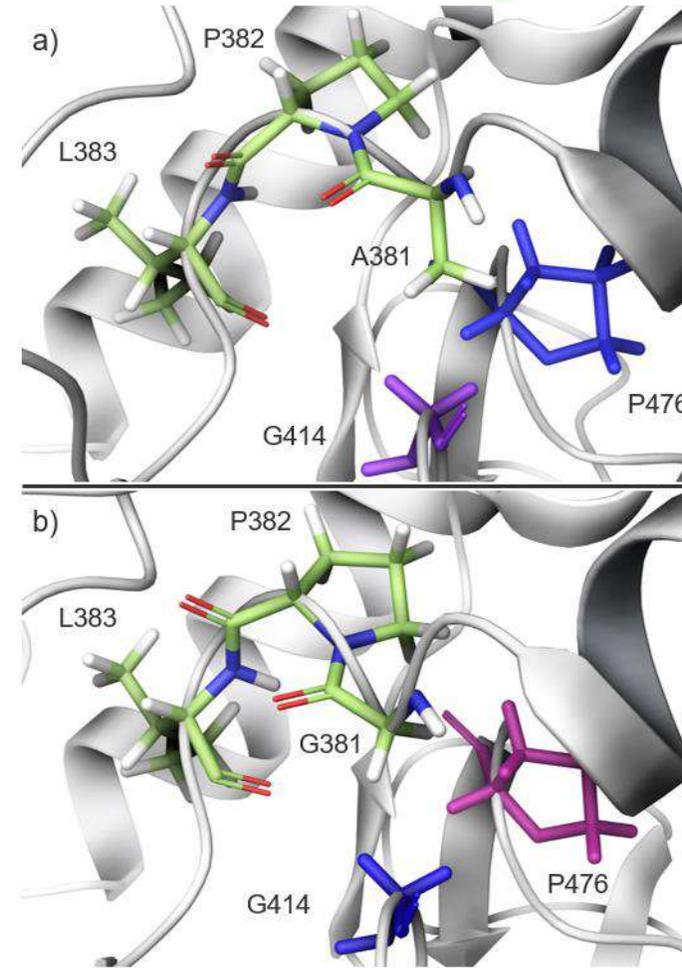


Acoplamiento de difenoconazol (a), epoxiconazol (b) y propiconazol (c) al PfCYP51 normal (naranja) y el mutante A313G (verde). Los tres fungicidas tienen un modo de unión similar en la enzima mutante y normal, aunque la mutación A313G reduce la energía libre de unión a través de la pérdida parcial de contactos hidrofóbicos, según los cálculos de MM-GBSA (Molecular mechanics with generalized Born and surface area solvation).

Mutaciones H380N y A381G

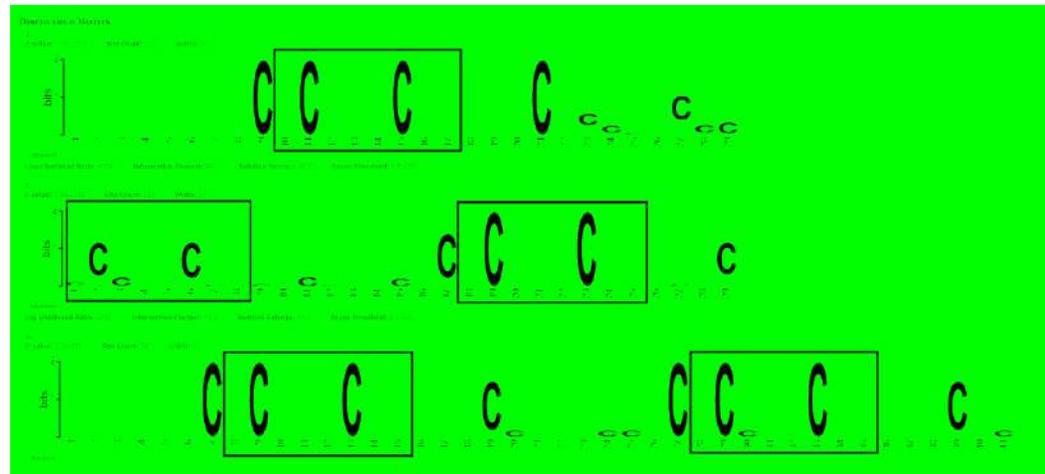


Comparación del PfCYP51 normal (a) y el mutante H380N (b). En el normal, la geometría de H380 está bloqueada por enlaces de hidrógeno e interacciones π - π con R328 y W324, respectivamente. En el mutante, **N380 no está orientado de manera óptima para interactuar con R328**, por lo que induce una **mayor flexibilidad** a nivel del bucle 380-385.

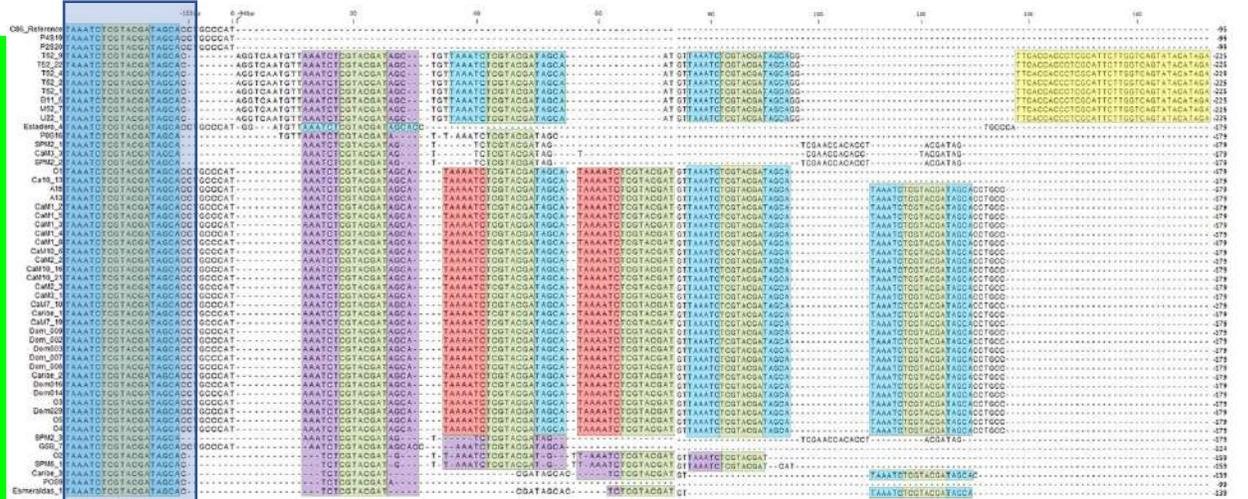


Comparación del PfCYP51 normal (a) y el mutante A381G (b). En el normal, A381 establece contactos hidrófobos con P476 y G414, fijando así el bucle 380-385 en una geometría correcta para la unión del ligando. En el mutante A381G, **la glicina introduce un mayor grado de flexibilidad** y reduce la interacción con P476, lo que a su vez **afecta la geometría** del bucle 380-385.

Inserciones en el promotor



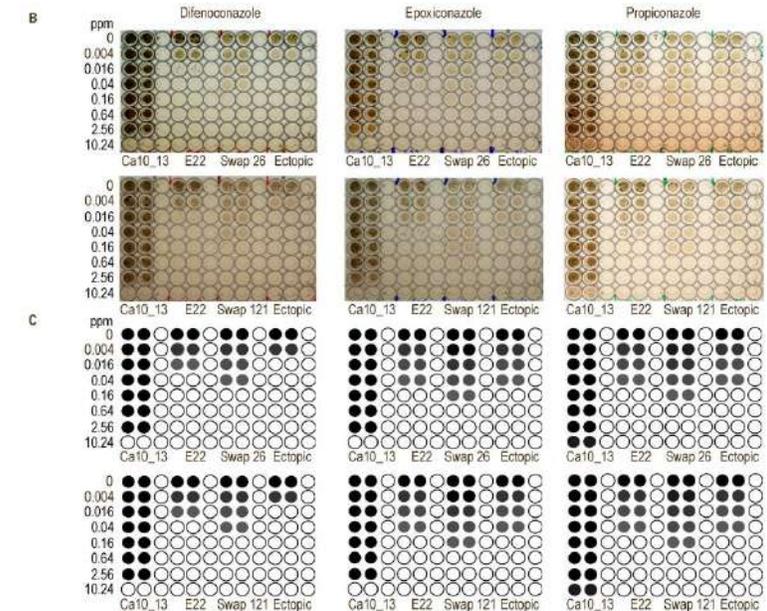
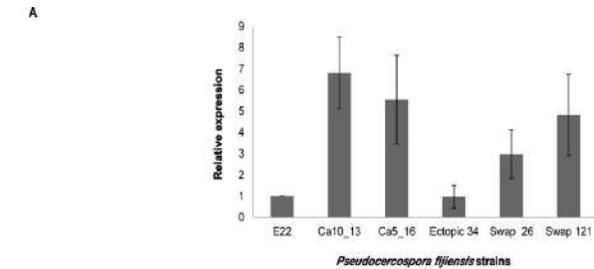
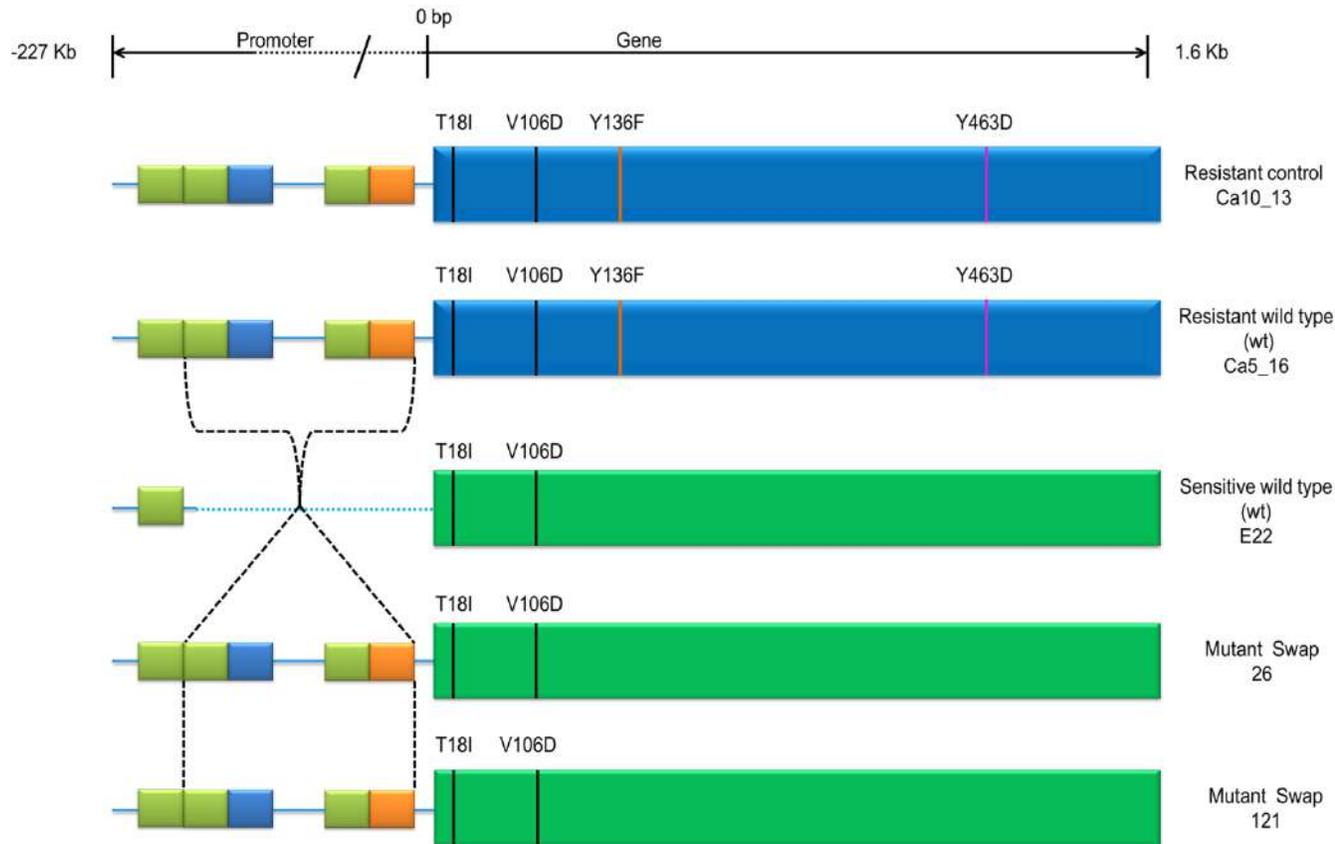
Elemento repetido en el promotor



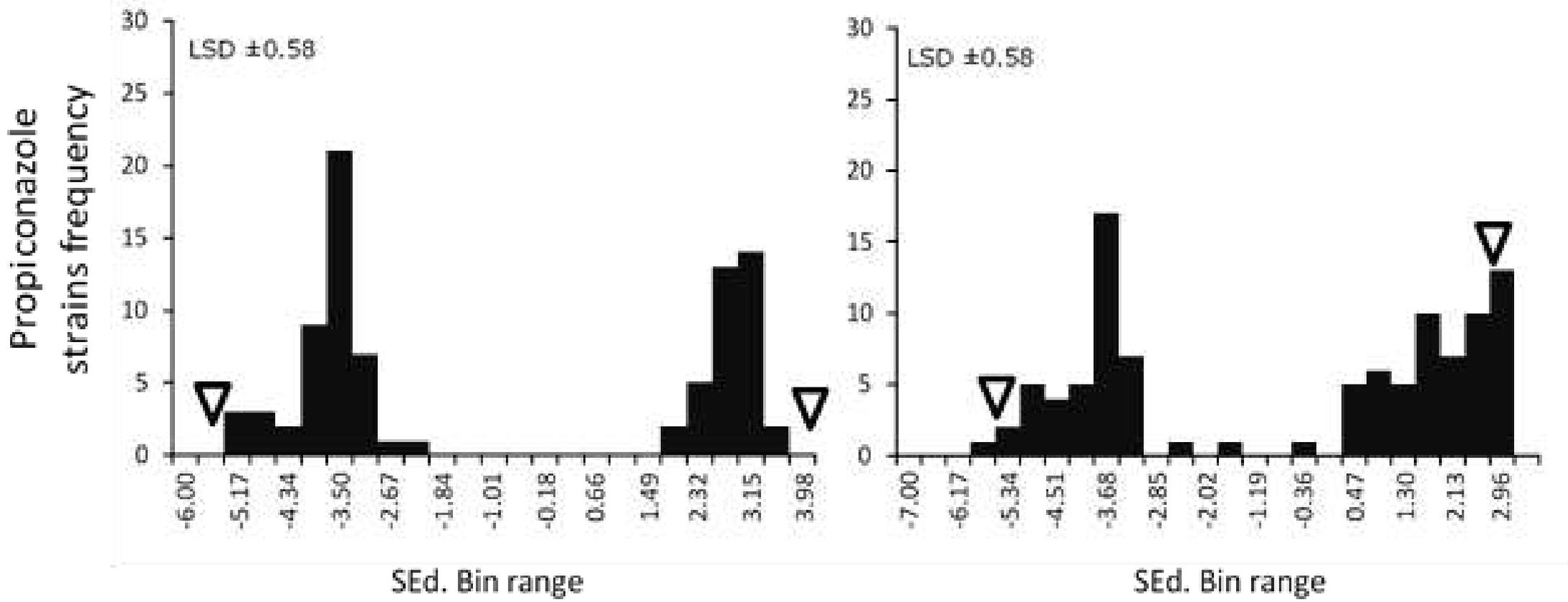
Elemento original

Inserciones repetitivas en el promotor

Transformación del promotor



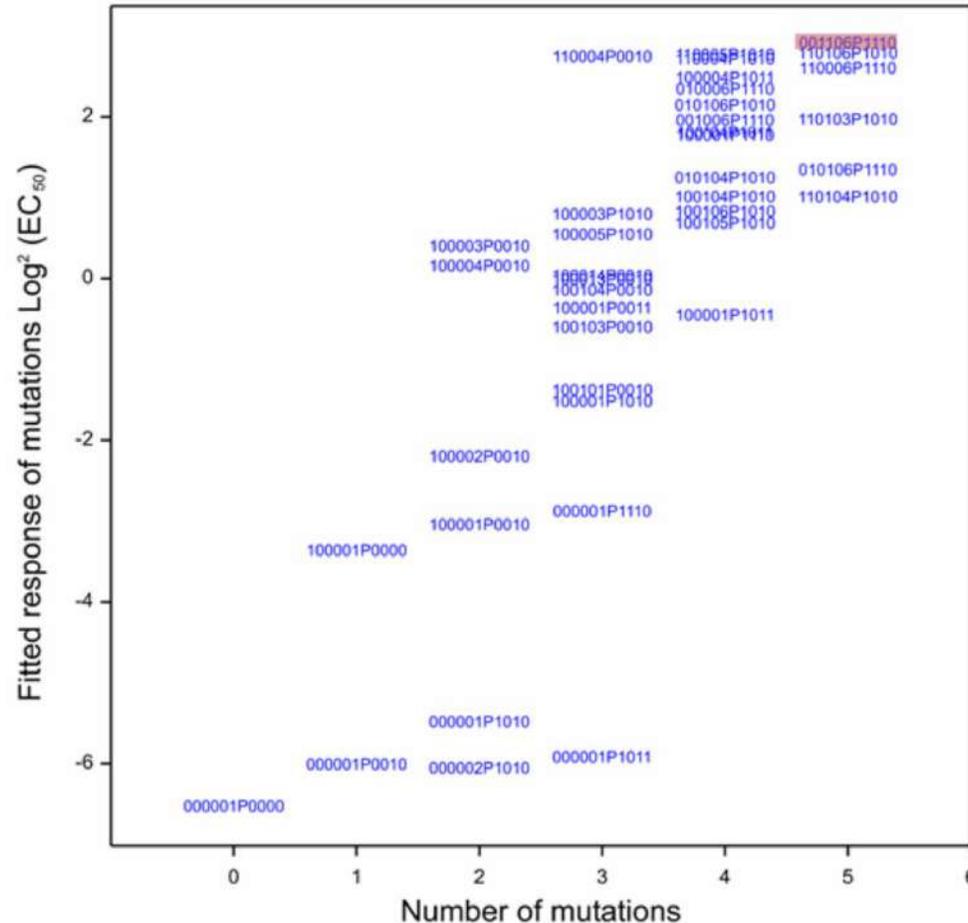
Distribución de alelos de resistencia



Distribución poblacional de resistencia de la progenie de un asilado susceptible con 2 aislados resistentes

Modelo genético de resistencia

Modelo: A313G-Y136F-H380N-Y463D-D460V-Prom-T18I-A381G-V106D-A446S

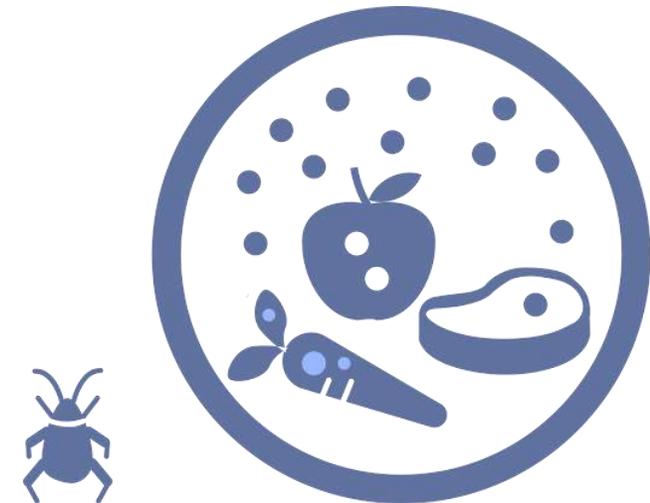


1. A313G
2. Y136F
3. H380N
4. Y463D
5. D460V
6. Prom
7. T18I
8. A381G
9. V106D
10. A446S



Factores que inciden el problema de la resistencia

- Cambio climático
- Prohibición de uso de fungicidas y reducción de LMRs
- Falta de colaboración local
 - Falta de mecanismos o voluntad para compartir información.
 - Información relevante clasificada como confidencial
 - Carácter competitivo de la industria
 - Importancia económica de la fruta.



Cambio en regulación

➤ Mancozeb

- Posible daño indirecto a la reproducción (mamíferos) y al feto. Se esta analizando prohibición o regulación.
- doi: 10.1016/j.envint.2016.11.006.
- doi: 10.1016/j.yrtph.2019.04.012.
- Reducción de LMRs (No en banano)
<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2020.6108>



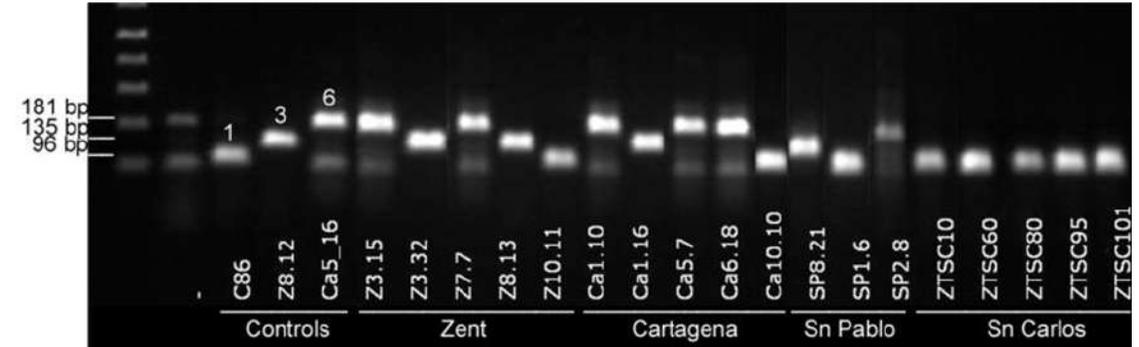
➤ Chlorothalonil

- No renovado para su comercialización según regulación (EC) No 1107/2009 pero mantiene LMRs
- Posible daño al ADN de mamíferos (Zhang et al., 2019 doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.05.029. Epub 2019 May 6)
- Daño al medio ambiente (peces, anfibios y abejas)
- (EFSA doi: 10.2903/j.efsa.2018.5126. eCollection 2018 Jan.)

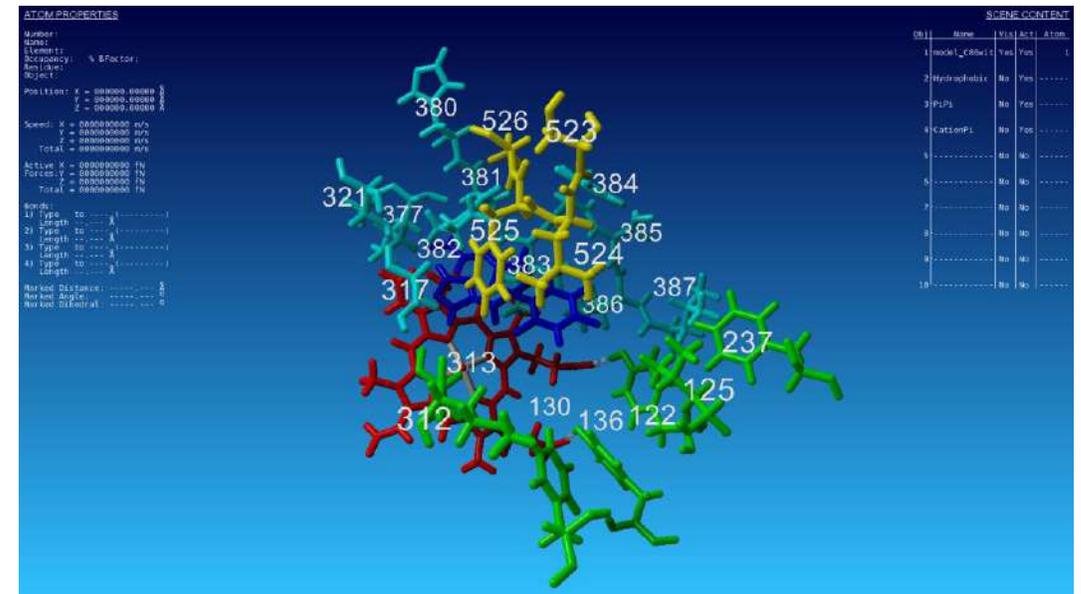


Perspectivas futuras de monitoreo y control

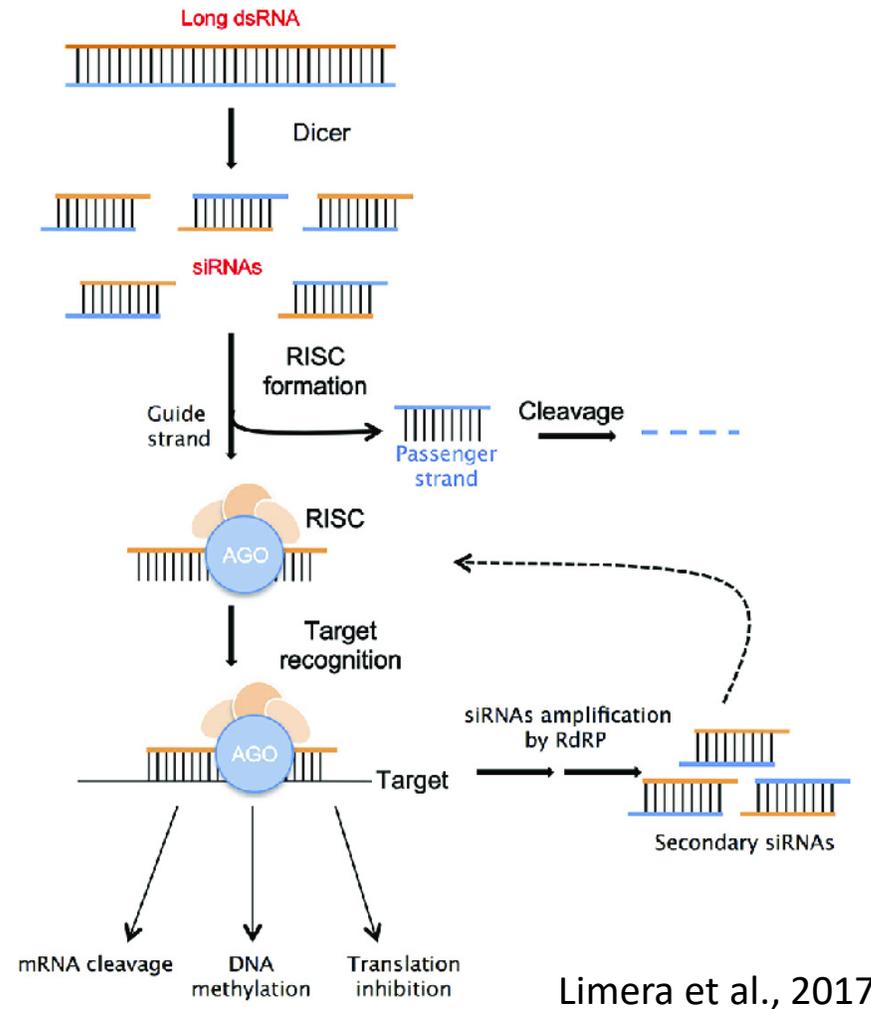
- Distribución de información (TICs.)
- Genética del hongo
 - Monitoreo moderno
 - Cuantificación de biomasa/inoculo inicial
 - Distribución de los alelos resistentes
 - Implementación de zonas tampón
- Control biológico
- Nuevos biofungicidas
 - RNAi (SIGS & HIGS)



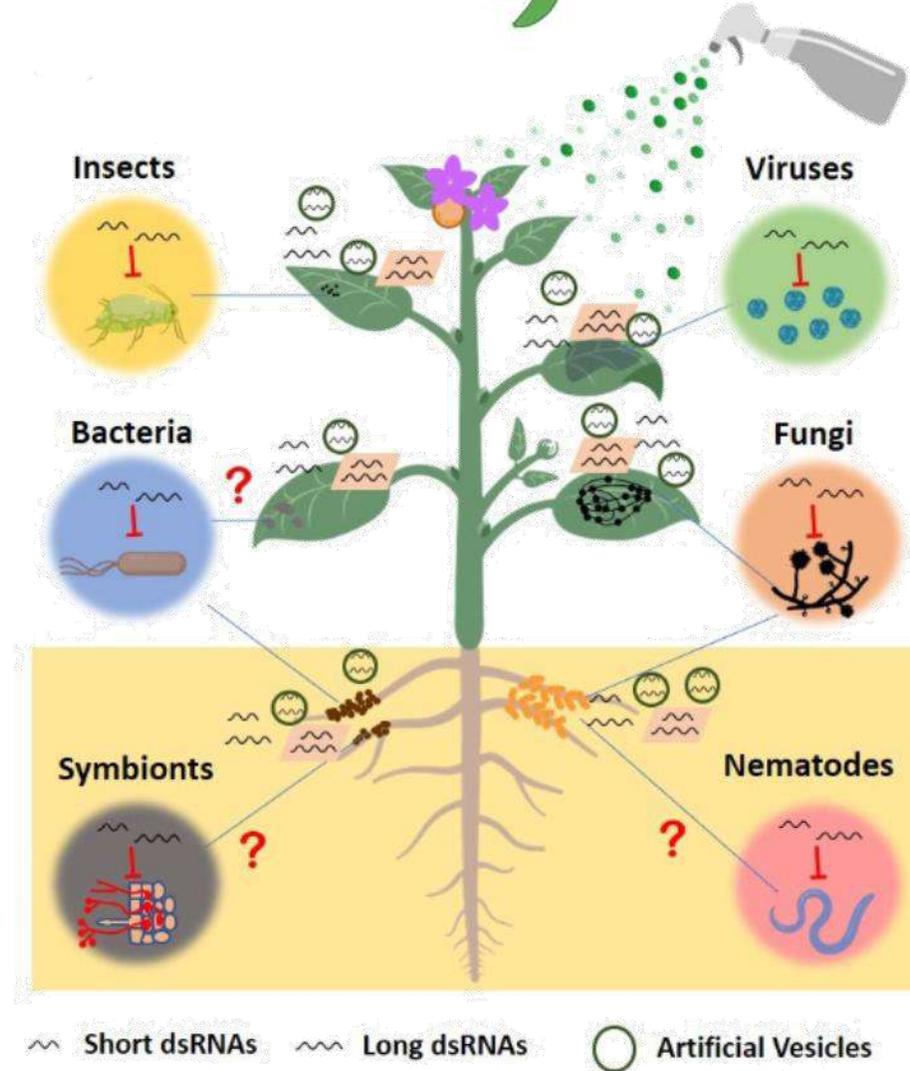
Díaz et al., 2018. <https://doi.org/10.1111/mpp.12637>



Control basado en ARNi



Limera et al., 2017



Qiang et al., 2019

Muchas Gracias

