

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA VIRULENCIA DE *Cochliobolus sativus* EN  
UN CONJUNTO DE CEBADAS SELECCIONADAS

por

María Isabel ERRO RUIZ  
Pilar IRURETA GOYENA BALDOMIR  
María Mercedes LUSIARDO SANZ

TESIS presentada como uno  
de los requisitos para obtener el  
título de Ingeniero Agrónomo

MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2020

Tesis aprobada por:

Director: -----  
Ing. Agr. Fernanda Gamba

-----  
Ing. Agr. Agustin Giudice

-----  
Ing. Agr. Rafael Vidal

Fecha: 27 de mayo de 2020

Autoras: -----  
María Isabel Erro Ruiz

-----  
Pilar Irureta Goyena Baldomir

-----  
María Mercedes Lusiardo Sanz

## AGRADECIMENTOS

En nombre de las autoras de la tesis, queremos agradecer a nuestras familias y amigos por el apoyo brindado durante este proceso. También a todas aquellas personas que de una u otra manera hicieron posible la realización de este trabajo. Por último, agradecer a nuestra tutora Fernanda Gamba por la buena disposición y voluntad en la elaboración del trabajo.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	V
1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u> .....	2
2.1 IMPORTANCIA A NIVEL MUNDIAL.....	2
2.2 IMPORTANCIA A NIVEL NACIONAL.....	3
2.3 RANGO DE HUÉSPEDES.....	3
2.4 CONDICIONES PREDISponentES.....	4
2.4.1 <u>Fuentes de inóculo</u> .....	5
2.4.2 <u>Ciclo biológico de <i>Cochliobolus sativus</i></u> .....	5
2.4.3 <u>Vías de diseminación</u> .....	6
2.5 PROCESO DE INFECCIÓN.....	6
2.6 SINTOMATOLOGÍA.....	7
2.7 ESPECIALIZACIÓN FISIOLÓGICA.....	8
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> .....	12
3.1 OBTENCIÓN DE AISLADOS MONOSPÓRICOS, PRODUCCIÓN Y MULTIPLICACIÓN DE INÓCULO.....	12
3.2 SIEMBRA DE LAS CEBADAS.....	14
3.3 OBTENCIÓN Y MULTIPLICACIÓN DEL INÓCULO E INOCULACIÓN ..	16
3.4 REGISTRO DE LAS RESPUESTAS DE INFECCIÓN.....	18
4. <u>RESULTADOS</u> .....	19
5. <u>DISCUSIÓN</u> .....	37
6. <u>CONCLUSIONES</u> .....	40
7. <u>RESUMEN</u> .....	41
8. <u>SUMMARY</u> .....	42
9. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....	43
10. <u>ANEXOS</u> .....	50

## LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Especies huéspedes de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	4
2. Aislamientos monospóricos de <i>Cochliobolus sativus</i> , cultivar muestreado en el campo y cultivar inoculado en estudios previos.....	13
3. Genotipos de cebada, criadero y comportamiento frente a mancha borrosa de acuerdo a INIA- INASE.....	15
4. Respuestas de infección (RI) de 44 genotipos de cebada inoculadas con 29 aislamientos de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	20
5. Respuestas de infección de <i>Cochliobolus sativus</i> en 44 genotipos de cebada en situaciones de baja concentración de inóculo.....	33
6. Muestras colectadas de <i>Cochliobolus sativus</i> y genotipo muestreado.....	34
Figura No.	
1. Mapa de distribución mundial de <i>Bipolaris sorokiniana</i> .....	3
2. Ciclo biológico de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	5
3. Proceso de infección de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	7
4. Repiques de <i>Cochliobolus sativus</i> en cámara.....	12
5. Disposición de semillas y cebadas sembradas.....	14
6. Obtención de inóculo.....	17
7. Escala de calificación de respuesta a la infección para plántulas de cebada infectadas con <i>Cochliobolus sativus</i> .....	18
8. Porcentaje de respuesta de infección de 44 genotipos de cebada inoculadas con 29 aislamientos de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	28
9. Media y desvío estándar de la respuesta de infección de 44 genotipos de cebada inoculadas con 29 aislamientos de <i>Cochliobolus sativus</i> .....	30
10. Porcentaje de la respuesta de infección de 29 aislamientos de <i>Cochliobolus sativus</i> inoculados en 44 genotipos de cebada.....	31
11. Media y desvío estándar de la respuesta de infección de 29 aislamientos de <i>Cochliobolus sativus</i> en 44 genotipos de cebada.....	32

## 1. INTRODUCCIÓN

La cebada (*Hordeum vulgare*) es una gramínea forrajera anual, perteneciente a la familia de las poáceas, que junto al trigo se ha vuelto una opción atractiva en el esquema de rotaciones agrícolas en Uruguay. La superficie sembrada y rendimientos obtenidos han fluctuado a lo largo de los años, asociado a eventos climáticos y características sanitarias particulares de cada año.

Las enfermedades constituyen la principal limitante en la producción de cebada en Uruguay, tanto en rendimiento como en calidad. Dentro de ellas se destacan las manchas foliares (mancha en red y mancha borrosa). Información generada en el país, reportó pérdidas en rendimientos en el orden de 13-33% (Díaz, 1996) para mancha en red común, 14-19% para mancha en red tipo spot y de hasta un 30% para el caso de la mancha borrosa (Pereyra y Germán, 2011).

Existen diferentes medidas de manejo sanitarias para el control de enfermedades en el cultivo de *Hordeum vulgare*, tales como el uso de genotipos resistentes, rotaciones con cultivos no huéspedes y el correcto uso de fungicidas. “La resistencia genética es el método preferencial, porque es ambientalmente sana y permite la complementación de diversas estrategias sanitarias” (Gamba y Tekauz, 2011). Sin embargo, ésta puede perder su efectividad debido al tipo y nivel de la resistencia (dependiendo de la compatibilidad huésped-patógeno), así también como por cambios en la agresividad de la población del hongo. La resistencia según el tipo puede ser monogénica, oligogénica o poligénica, involucrando un gen, pocos genes o muchos genes, respectivamente; siendo la primera la más fácil y rápida de quebrar, ya que, por la mutación de un solo gen, se podría perder la efectividad de la misma.

El objetivo principal de este trabajo es evaluar la variabilidad patogénica de *Cochliobolus sativus* en un conjunto de cebadas seleccionadas y la resistencia genética de éstas frente a los mismos. Otro objetivo fue obtener una colección de muestras inoculadas.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

*Bipolaris sorokiniana* (teleomorfo: *Cochliobolus sativus*) es el agente causal de podredumbre de raíz y corona, mancha foliar y punta negra en grano (Kumar et al., 2002). “*La mancha borrosa inducida por Bipolaris sorokiniana es un hongo Ascomicete, clase Loculoascomicetes, orden Pleosporales, familia Pleosporaceae*” (Mathre, 1997).

Este hongo se distribuye a nivel mundial, presentándose principalmente en América del Norte, América del Sur, Europa y varios países de Asia; siendo las condiciones ambientales óptimas para su infección, la presencia de agua libre sobre la hoja durante 9 a 24 horas y temperaturas entre 24-28°C (Pereyra et al., 2005a).

### 2.1 IMPORTANCIA A NIVEL MUNDIAL

La producción de cebada representa el 8% de la producción mundial de cereales, siendo la Unión Europea, Rusia, Canadá, Australia, Ucrania, Turquía y Kazajistán los principales productores. Su gran importancia radica en el rol que ocupa en la alimentación animal y humana, representando las dos terceras partes de los granos forrajeros que demanda el mundo (De Bernardi, 2018).

*Cochliobolus sativus* tiene la capacidad de interferir a una amplia gama de huéspedes, siendo de mayor importancia en trigo y cebada debido al peso económico que presentan (Mathre, 1997). Datos revelan que, a pesar de que éste patógeno afecta distintos órganos de la planta, la mancha foliar es la que causa mayores reducciones de rendimiento (Almgrem et al. 1999, Kumar et al. 2002). Van Leur et al. (1997), Anonymous (2005), Pereyra (2005b) reportan pérdidas de rendimiento entre 7% y 30% para cebada.

Debido al incremento mundial en la demanda de productos de trigo, los cultivos se han volcado hacia un sistema de producción intensivo (Dubin y Rajaram, 1996). Esta intensificación, acompañada de progresos en el mejoramiento genético y la introducción de riego, ha beneficiado la propagación del patógeno causal de mancha borrosa (Nagarajan y Kumar, 1998).

Por otra parte, dado el mejoramiento en la resistencia frente a la roya de la hoja, resultando en ausencia de epidemias de roya, la mancha borrosa se ha convertido en una limitante en la producción intensiva del Sur de Asia, en donde casi 12.000 ha se vieron afectadas (Nagarajan y Kumar 1998, Ruckstuhl 1998, Singh et al. 1998). A su vez, debido a los reemplazos de variedades locales por genotipos de altos rendimientos y con resistencia a roya, la

producción de este cereal también se vio afectada en algunas partes de China (Chang y Wu, 1998). Según otras fuentes, esta enfermedad se distribuye también en América del Norte y América Latina (Duczek y Jones-Flory, 1994) (Mehta et al., 1992) y con menor frecuencia en partes de Europa (Kwasna, 1995, figura 1).



Figura 1. Mapa de distribución mundial de *Bipolaris sorokiniana*

Fuente: Kumar et al. (2002).

## 2.2 IMPORTANCIA A NIVEL NACIONAL

El área agrícola ocupada por cultivos de invierno en Uruguay corresponde mayoritariamente a trigo seguido por la cebada. Datos de los últimos 6 años, muestran un promedio de 319.647 hectáreas y un rendimiento promedio de 3.182 kg/ha para trigo y para cebada de 132.083 hectáreas y un rendimiento promedio de 3.282 kg/ha (MGAP. DIEA). Las manchas foliares son un factor reductor del rendimiento, siendo una de las principales limitantes en el logro de rendimientos potenciales altos y estables a través de los años (Mathre, 1997). En cebada, es aún más importante dada la incidencia de las enfermedades en su calidad maltera (Arias, 1985) y dado que existe una escasa variedad de cultivares con niveles aceptables de resistencia genética (Gamba y Estramil, 2012).

## 2.3 RANGO DE HUÉSPEDES

*Cochliobolus sativus* presenta una amplia gama de huéspedes que se presentan en el siguiente cuadro (cuadro 1). Es de suma importancia conocer este dato, ya que los diversos huéspedes, al ser fuente de inóculo, contribuyen a la reproducción y diseminación del patógeno. Sin embargo, *Cochliobolus*



*sativus* se destaca por inducir manchas foliares en trigo y cebada, principales componentes de los cultivos invernales en nuestro país.

Cuadro 1. Especies huéspedes de *Cochliobolus sativus*

<b>Monocotiledóneas huéspedes</b>	
Cereales	<i>Triticum aestivum</i>
	<i>Secale cereale</i>
	<i>Hordeum vulgare</i>
	<i>Hordeum murinum</i>
	<i>Avena sativa</i>
Forrajeras	<i>Agropyron pectinatum</i>
	<i>Agropyron repens</i>
	<i>Alopecurus pratensis</i>
	<i>Beckmannia eruciformis</i>
	<i>Bromus erectus</i>
	<i>Bromus inermis</i>
	<i>Dactylis glomerata</i>
	<i>Festuca heterophylla</i>
	<i>Festuca ovina</i>
	<i>Lolium perenne</i>
	<i>Pennisetum villosum</i>
<i>Poa pratensis</i>	
<i>Setaria viridis</i>	

Fuente: Bakonyi et al. (1997).

## 2.4 CONDICIONES PREDISPONETES

Las condiciones ambientales que predisponen a la infección de *C. sativus* involucran una combinación de temperatura, humedad y presencia de agua, determinada. Kumar et al. (2002) citan que, con condiciones de cinco o seis días de lluvia, seguidos de temperaturas cálidas (20-30 °C), la enfermedad puede desarrollarse rápidamente. Sin embargo, Pereyra et al. (2005a) afirman que con 9 – 24 horas de agua libre sobre la hoja, sumado a temperaturas entre 24 – 28 °C es suficiente para el desarrollo de la misma.

Según Kumar et al. (2002), la susceptibilidad del trigo y la cebada, al patógeno aumenta en torno la espigazón, particularmente en Zadoks 5.6, coincidiendo con la emergencia de tres cuartas partes de la espiga. A su vez, en condiciones de bajas intensidades lumínicas, el patógeno puede colonizar intercelularmente los tejidos sin causar daños visibles.

### 2.4.1 Fuentes de inóculo

El patógeno en estudio presenta diversas fuentes de inóculo, entre ellas, las semillas, lesiones necróticas en plantas del cultivo y plantas voluntarias, rastrojos infectados de huéspedes y para la fase de podredumbre radicular y de corona, los conidios durmientes en el suelo (Pereyra, 1996). Sin embargo, “la creciente adopción de la técnica de siembra directa sin rotaciones adecuadas, ha causado un aumento en la incidencia de esta enfermedad en los últimos años” (Pereyra et al., citados de Gamba y Estramil, 2012).

### 2.4.2 Ciclo biológico de *Cochliobolus sativus*

El ciclo de los Ascomycetes comprende dos fases: asexual y sexual (figura 2). En la primera, se producen esporas asexuales o conidios, siendo de gran importancia ya que esta fase se repite durante todo el ciclo del cultivo, pudiendo infectar hojas, tallos, espigas e incluso granos. En la segunda fase, se desarrollan estructuras capaces de resistir condiciones desfavorables de humedad y temperatura durante la ausencia del cultivo. De esta forma, el patógeno asegura la sobrevivencia, liberando ascosporas al inicio de un nuevo ciclo de cultivo (Silva, 2011).

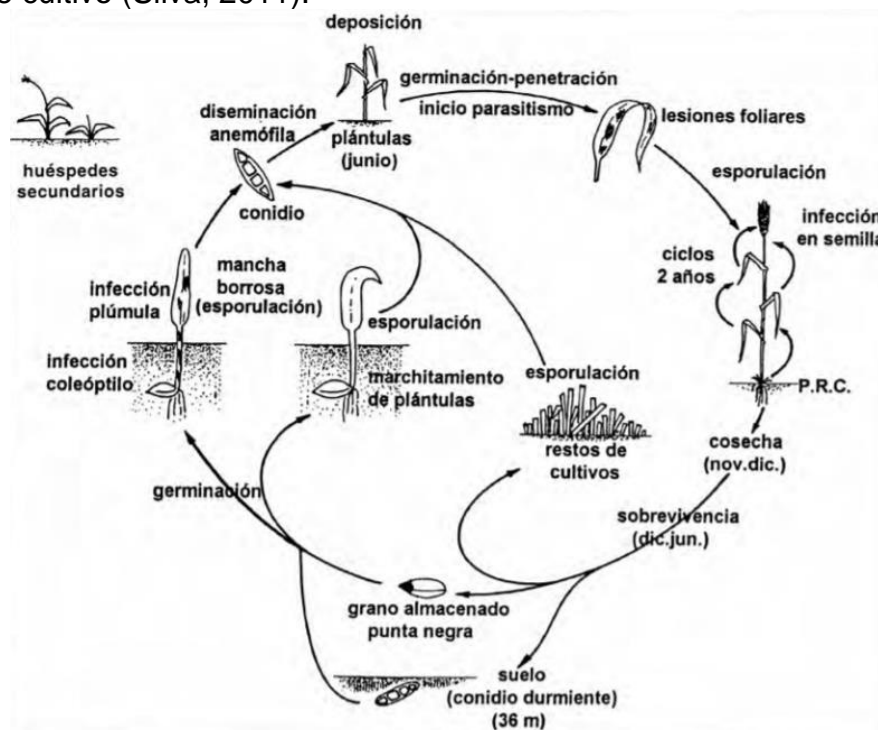


Figura 2. Ciclo biológico de *Cochliobolus sativus*

Fuente: Pereyra (1996).

### 2.4.3 Vías de diseminación

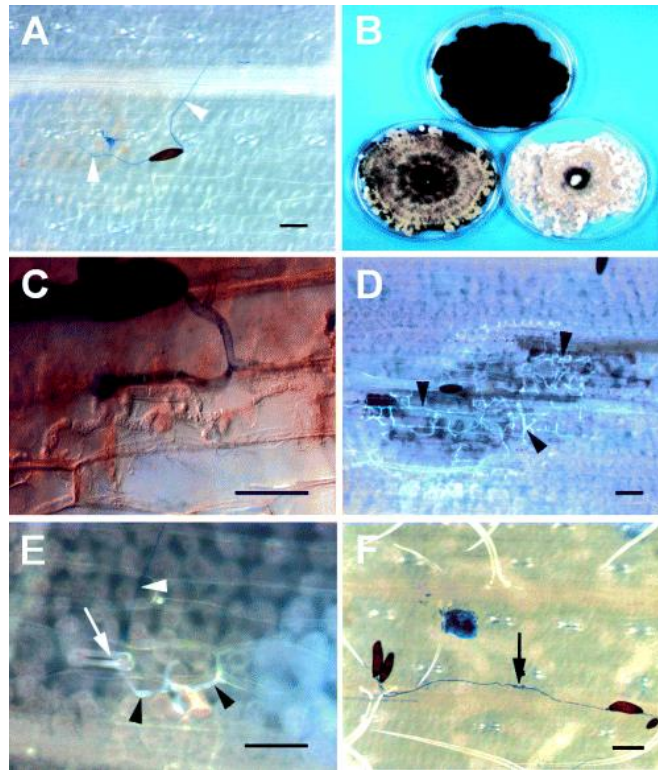
*“Las infecciones iniciales en las hojas en primavera ocurren generalmente a partir de los conidios llevados por el viento, producidos en restos de cultivos o en otros huéspedes, bajo condiciones de temperaturas cálidas y alta humedad”* (Pereyra, 1996). A largas distancias, la diseminación es mayoritariamente a través de semillas infectadas, ya que, por su tamaño y peso, los conidios transportados por el viento alcanzan cortas distancias.

## 2.5 PROCESO DE INFECCIÓN

*Cochliobolus sativus* pertenece al grupo de hongos hemibiotrófos, ya que, durante la infección, desarrolla una primera fase biotrófica, seguida de una necrotrófica (figura 3). La fase biotrófica consta de la formación del apresorio a partir del tubo germinativo y posterior penetración de la cutícula y pared celular de la célula epidérmica del huésped; seguido por una invaginación de la membrana citoplasmática y desarrollo de las hifas dentro de las células. Durante la fase necrotrófica se da la invasión del espacio intercelular del mesófilo, por parte de la hifa, acompañada de una desestabilización del sistema membranario y muerte de las células de la epidermis y del mesófilo (Kumar et al., 2002). En la fase necrotrófica se da el colapso de las células del huésped, indicada por un incremento en la fuga de electrones, coincidiendo con el desarrollo de la enfermedad. Durante esta fase se da la secreción de toxinas por el hongo, provocando la muerte de la célula y una respuesta necrótica en la hoja.

Diferentes reportes indican que existe una variabilidad de toxinas, siendo las más destacadas las de la familia heliminthosporal. Éstas actúan afectando la permeabilidad de la membrana, inhibiendo la fosforilación oxidativa mitocondrial y la fotofosforilación en los cloroplastos, así como, al bombeo de protones a través de la membrana plasmática (Briquet et al., 1998). La información indicaría que las toxinas de esta familia actuarían como desacopladores clásicos y no a través de una interacción específica con un receptor de la membrana del huésped (Kumar et al., 2002).

En el caso de la mancha borrosa se da una respuesta oxidativa, evidenciada en células epidérmicas y del mesófilo con la acumulación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrógeno, intermediario reactivo del oxígeno). Kumar et al. (2002), citan que existiría una correlación positiva entre el nivel de susceptibilidad a mancha borrosa y la cantidad de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> acumulado en las lesiones de las hojas. Por lo tanto, la acumulación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> estaría asociada a la infección exitosa del patógeno.



(A) Espora del patógeno y representación (flechas blancas) del micelio. (B) Diversidad en color y morfología del micelio fúngico. (C) Fase de crecimiento biotrófica. (D) Fase de crecimiento necrotrófica. Las puntas de flechas negras representan la tinción de hifas fúngicas, que visualiza la propagación del patógeno dentro del tejido del mesófilo. (E) Invasión vía estomas. Micelio fúngico (flechas blancas) e hifas fúngicas (flechas negras). (F) Las hifas que se originan en dos conidios diferentes se unen para establecer la fusión, que podría ser una de las causas de la variabilidad del patógeno.

Figura 3. Proceso de infección de *Cochliobolus sativus*

Fuente: Kumar et al. (2002).

## 2.6 SINTOMATOLOGÍA

Una vez desarrollada la infección, la mancha se presenta como lesiones redondas a elípticas, de color marrón oscuro y a veces, con presencia de halo clorótico. La misma se presenta durante todo el ciclo del cultivo, principalmente en estado adulto luego de la espigazón, debido a que en ese momento se dan las condiciones óptimas para el desarrollo de la enfermedad. Al igual que todas las manchas foliares las mismas reducen el área fotosintéticamente activa llegando en casos a provocar la senescencia de la hoja y hasta la muerte de la planta (Fetch y Steffenson, 1994).

## 2.7 ESPECIALIZACIÓN FISIOLÓGICA

En cuanto a la especialización fisiológica del patógeno, Shaner et al., citados por Andrivon (1993) describen tres conceptos importantes: agresividad, patogenicidad y virulencia. Vanderplank (1968) define a la agresividad como la cuantificación de la enfermedad inducida por una cepa de un patógeno en un huésped susceptible. La misma dependerá del patógeno, del huésped y de las condiciones climáticas. Se ha demostrado que un mismo aislamiento patogénico puede causar diferentes niveles de enfermedad según la susceptibilidad del huésped, es por ello que la agresividad dependerá de las características de resistencia parcial que presente el huésped en el cual se mide. Por otra parte, Shaner et al. (1992), definen a la patogenicidad como la habilidad que presenta un microorganismo de causar enfermedad y a la virulencia como la capacidad relativa de dañar a un huésped. Además, mencionan que los conceptos de agresividad y virulencia no dependerán solamente del patógeno, sino que resultarán de una interacción entre huésped-patógeno. Andrivon (1993) definió a la agresividad como una representación de interacciones cuantitativas y no específicas entre aislados de patógenos y genotipos del huésped.

La bibliografía demuestra que el hongo presenta diferentes niveles de agresividad y/o virulencia según el cultivar con el que interactúe (Gamba y Estramil, 2012). Dado esto, se realizaron estudios a nivel mundial buscando reportar las diferencias encontradas en el nivel de virulencia para *C. sativus*.

El estudio de la especialización fisiológica comienza en 1926, cuando Christensen reportó formas fisiológicas del hongo que causan diferentes grados de infección, por lo que los aislamientos varían considerablemente en virulencia para trigo y cebada (Kumar et al., 2002). A su vez, Nelson (1960) encontró reacciones diferenciales en especies forrajeras, al utilizar progenies de cruza entre aislamientos que mostraron diferencias morfológicas, definiendo niveles de patogenicidad.

Continuando con la investigación, Valjavek-Gratian y Steffenson (1997) identificaron tres patotipos (fenotipo de virulencia de un aislado) de una colección de 36 aislados de North Dakota (EE.UU.) sobre la base de fenotipos de la infección con tres cebadas diferenciales (ND 5883, Bowman y NDB 112). Se determina como cebadas diferenciales al conjunto de genotipos que muestran respuesta de infección clara y contrastante (altas y bajas) a los aislamientos del patógeno estudiado y que, por lo tanto, son efectivas para caracterizar la virulencia. Dentro de los aislamientos se incluyeron a modo de control, ya que se conocía previamente el tipo de virulencia frente a estas cebadas diferenciales, los aislados ND85F, ND90Pr y ND93-1. De acuerdo al

sistema de nomenclatura de tripletes codificados, se designaron a los aislamientos ND93-1, ND85f y ND90Pr como patotipo 0, 1 y 2 respectivamente y en los restantes aislamientos no se pudo identificar otro patotipo. La designación de un patotipo clasifica a los aislamientos en grupos según su capacidad de infectar subconjuntos de líneas de cebada diferenciales. El sistema utiliza diferenciales de cebadas ordenadas en subconjuntos de tres, asignándole un dígito a cada una de ellas. La reacción de cada aislado en un componente huésped se describe según su virulencia (1 para virulento y 0 para avirulento). Estos valores se convierten por un factor de conversión determinado;  $2^0$ ,  $2^1$  y  $2^2$  para el primer, segundo y tercer dígito respectivamente. Una vez calculados, se suman, asignándose un único dígito para cada subconjunto, separados por un punto entre cada valor. La principal desventaja de este sistema es la distinción arbitraria de las respuestas resistentes frente a las susceptibles basándose en la división de una escala de 9 puntos en únicamente dos clases.

Fetch y Steffenson (1999) realizaron un estudio comparando el patrón de virulencia de dos aislamientos de *C. sativus* de North Dakota, para un grupo de cinco genotipos de cebadas, bajo condiciones de campo e invernáculo. Los aislamientos utilizados (ND90Pr y ND85F) presentaron diferentes patrones de virulencia en los genotipos ND5883, ND12437, ND12720, ND12721 y Bowman. En ambos experimentos (a campo vs invernáculo) los resultados fueron similares, determinando grados de infección alto (7-8) y bajo (2-4) según el aislamiento y genotipo analizado. El aislamiento ND90Pr presentó alta virulencia en los genotipos ND12720, ND 12721 y Bowman y baja virulencia en ND 5883 y ND 12437. Por su parte, el aislamiento ND85F mostró niveles altos en ND 5883 y ND 122437, mientras que en ND 12720, ND 12721 y Bowman, se comportó con baja virulencia. Para el caso del genotipo NDB 112, los dos aislamientos expresaron baja virulencia, determinando que NDB 112 se considere la principal fuente de resistencia a *C. sativus* en el germoplasma comercial de cebada de seis hileras. En Australia realizaron estudios con un grupo de 34 aislados de origen australiano, en un grupo de 20 cultivares de cebadas, en el cual se identificaron seis patotipos (Meldrum et al., 2004).

Posteriormente, en Siria, Arabi y Jawar (2004) reportaron la presencia de tres tipos de virulencia para *C. sativus*, en 11 aislados con 10 cebadas diferenciales. Ghazvini y Tekauz (2008), evaluaron la respuesta a la virulencia causada por 127 aislamientos del patógeno, colectados en Canadá y otras partes del mundo, en 12 genotipos de cebadas diferenciales. Según los autores, el análisis de los datos basados en la respuesta a la infección en los diferenciales de cebada, resultó en una clara comprensión de las interacciones huésped-patógeno y de su relación con los aislamientos. Este análisis permitió la clasificación de ocho grupos de virulencia de *C. sativus*, los cuales se

diferenciaron en tres grandes grupos, según su agresividad, definidos como de baja virulencia (0.0.0.0), virulencia diferencial (6.0.0.0) y virulencia con niveles variados de agresividad (6.3.5.0, 7.7.5.1, 7.7.7.5, 7.7.5.4, 5.7.4.0 y 5.7.0.0). Entre ellos, se encontró que los grupos 7.7.7.5 y 7.7.5.1 fueron altamente virulentos sobre los genotipos de seis hileras de América del Norte, los cuales fueron considerados hasta el 2008 con resistencia durable, como es el caso de NDB 112. Los resultados indicaron que diferentes niveles de agresividad estuvieron presentes entre aislamientos del grupo 0.0.0.0, a pesar de presentar baja virulencia para todas las líneas diferenciales. Esto se debe a que se clasifica con un 0 a las respuestas de infección menores a 5, y un 1 a las respuestas de infección entre 6 y 9, sin clasificar más específicamente. De acuerdo a estos resultados, los autores sugieren que a pesar de poder clasificar la población de *C. sativus* en diferentes patotipos, es de gran importancia considerar la variación de virulencia de los aislamientos entre los patotipos. Por lo tanto, proponen que la manera más apropiada para describir el rango de virulencia presente entre aislamientos de cada patotipo, debería ser descripta incluyendo el término de agresividad. En conclusión, sugieren que el sistema gen por gen no sería el único operando en el patosistema *H. vulgare* - *B. sorokiniana*, y que se deberían usar técnicas más precisas para caracterizar adecuadamente la compatibilidad que tiene *B. sorokiniana* en la cebada.

Knight et al. (2010), inocularon 31 aislamientos de *C. sativus* en 15 genotipos diferenciales de cebada de origen australiano y encontraron 11 patotipos. Estos se agruparon en tres grupos utilizando el análisis de conglomerados con los valores de respuesta de infección de cada aislamiento: baja patogenicidad (PC1) representados por los patotipos 0.0.0.0, alta patogenicidad (PC2) por los patotipos 1.7.7.7, 1.5.7.7, 1.6.7.6 y 1.6.5.6 y patogenicidad intermedia (PC3) por los patotipos 1.5.1.7, 1.6.5.7, 0.0.1.3, 0.0.5.4, 0.0.1.6 y 1.0.2.6.

El primer estudio realizado en Uruguay, sugiere la existencia de tres perfiles de virulencia diferencial, analizados en un grupo de 37 aislamientos y 15 genotipos de cebada (Gamba et al., 2000). Posteriormente, se encontraron tres genotipos de cebada nacionales que permitieron identificar tres grupos de virulencia diferencial, entre 30 aislados. En el mismo estudio, se inocularon también, los tres patotipos previamente identificados en Estados Unidos (patotipo 0: ND 93-1; patotipo 1: ND 90Pr; patotipo 2: ND 85F) por Valjavec-Gratian y Steffenson (1997) y 26 aislados uruguayos fueron inoculados en las tres cebadas diferenciales (ND 5883, Bowman y NDB 112) usadas por los mismos autores. Finalmente, se identificaron dos grupos de aislados, de los cuales, uno presentó el mismo comportamiento que el patotipo 1 y el otro, al patotipo 2. No se identificó ningún aislamiento con similar patrón de virulencia al patotipo 0 (Gamba y Estramil, 2002).

Posteriormente, los datos nacionales revelan la existencia de una alta variabilidad de la población local de *C. sativus*, acompañados de niveles muy bajos de resistencia genética de las cebadas (Gamba et al., 2010). Existe concordancia entre estos datos y la alta variabilidad genética de los aislados locales detectada con marcadores moleculares RAPDs (Pritsch et al., 2006).

Estudios más actuales realizados por Gamba y Estramil (2012) evaluaron la diferencia en agresividad de 44 aislamientos de *C. sativus* en un grupo de 28 cebadas. Se identificaron ocho aislados que presentaron respuestas de alta compatibilidad huésped-parásito, pero diferentes entre sí. El nivel de resistencia de las cebadas presentó rangos de comportamientos diferentes, variando entre 63,6% y 0%, frente a este grupo de aislados. Los resultados indicarían que existen altos y diversos perfiles de agresividad, para el grupo de aislados utilizados.

Sin embargo, estudios que incluyan nuevos aislamientos y diferentes genotipos de cebada, permitirían realizar un análisis más completo sobre la composición de la población de *C. sativus*. De esta manera, se podría lograr desarrollar estrategias de mejoramiento genético que involucren la obtención de cultivares de cebada con resistencia genética más efectiva y durable (Gamba y Estramil, 2012). Es así, que en este trabajo se buscó evaluar la variabilidad patogénica de 29 aislamientos de *Cochliobolus sativus* en un conjunto de 44 genotipos de cebadas seleccionadas y la resistencia genética de éstas frente a los mismos.



### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 OBTENCIÓN DE AISLADOS MONOSPÓRICOS, PRODUCCIÓN Y MULTIPLICACIÓN DE INÓCULO

Los aislamientos generados se obtuvieron a partir de hojas inoculadas (cuadro 2). Para esto se realizó una cámara húmeda con trozos de hojas seleccionadas, la cual consta de colocar trozos de 2 a 3 cm en placas de Petri de vidrio esterilizadas (de 10 cm de diámetro), con papel de filtro previamente humedecido con agua autoclavada. Por último, las cámaras húmedas se llevaron a una cámara con condiciones controladas (fotoperíodo de 12 horas y temperatura a 22°C) durante 48-72 horas, buscando la formación de colonias (desarrollo del hongo, visible macroscópicamente, donde se desarrollan los conidios).

Luego de obtener colonias que ocupen un 90% aproximadamente de la placa de Petri, se seleccionó un conidio con una aguja desinfectada y esterilizada y se colocó en una placa de Petri descartable (de 9 cm de diámetro) que contiene medio PDA (Potato Dextrose Agar Oxoid, 900 ml de agua destilada, 20 gramos de PDA y 3 gramos de  $\text{CaCO}_3$ ). Se repitió el mismo procedimiento seleccionando 3 conidios de cada placa. Posteriormente, cada placa de Petri se selló herméticamente con papel de parafina para su incubación. Como resultado de la pesca se consiguieron diferentes aislamientos a partir de las cámaras húmedas. Se obtuvieron 3 conidios por cámara húmeda, con el fin de obtener la cantidad de inóculo necesario. Cada placa con los conidios correspondientes, se incubó durante 7 días aproximadamente para promover la formación de colonias a la vez que se realizó un seguimiento diario para controlar posible contaminación.

Una vez alcanzado un crecimiento adecuado de cada colonia, se inició la multiplicación del inóculo. La colonia a repicar se seleccionó según criterio de crecimiento y contaminación. Se cortaron 5 trozos de colonia y se colocaron cada uno en un medio PDA (figura 4). Posteriormente se llevaron a cámara durante 7 días, a iguales condiciones que las mencionadas anteriormente. Se realizó una observación diaria del crecimiento de las colonias, eliminando formaciones extrañas no pertenecientes a las mismas.

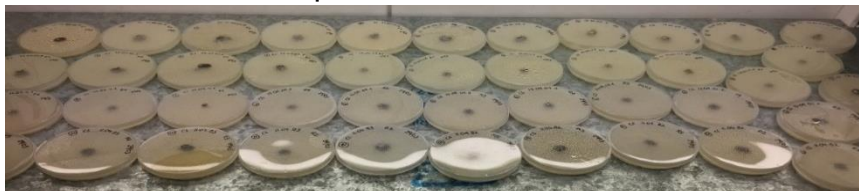


Figura 4. Repiques de *Cochliobolus sativus* en cámara

Cuadro 2. Aislamientos monospóricos de *Cochliobolus sativus*, cultivar muestreado en el campo y cultivar inoculado en estudios previos

<b>Aislamiento</b>	<b>Cultivar muestreado</b>	<b>Cultivar Inoculado</b>
11.04 B	MOSA 10	Lindwall
11.04 B	MOSA 10	Perún
17.01.02	CLE 307	N. Daymán
17.01.02	CLE 307	CLE 280 (Cronos)
17.01.02	CLE 307	Explorer
17.07.4	CLE 232	MUSA 936
17.07.4	CLE 232	N. Carumbé
17.09.01	MUSA 936	Umbrella
17.09.01	MUSA 936	NDB 112
17.09.01	MUSA 936	Ceibo
17.10.1 (19)	CLE 267	NDB 112
17.10.1 (10)	CLE 267	N. Daymán
17.34.1 (29)	MOSA 13 – 113 c/f	N. Daymán
17.34.1 (38)	MOSA 13 – 113 c/f	ND 17 – 293
17.35.1 (41)	CLE 306	MUSA 936
17.35.1 (47)	CLE 306	ND 5883
17.39.1 (58)	MOSA 12 – 143 c/f	N. Daymán
17.39.1 (60)	MOSA 12 – 143 c/f	ND 5883
17.40 2 A	MOSA 14 – 36	Skiff
17.40 2 B	MOSA 14 – 36	INIA CEIBO
17.40.1	MOSA 14 – 36	Delta
17.57 1 A	s/i	Gilbert
17.57 1 B	s/i	INIA CEIBO
17.57 2 A	s/i	Umbrella
17.57 2 B	s/i	N. Daymán
17.57 3 A	s/i	INIA CEIBO
17.57 3 B	s/i	N. Daymán
17.58 2 A	PGWS 18 – A171	NDB 112
17.58 2 B	PGWS 18 – A171	Tolar
17.62 2 A	CLE 314 c/f	INIA CEIBO
17.62 2 B	CLE 314 c/f	Grace

\*s/i: sin información

\*c/f: con fungicida

### 3.2 SIEMBRA DE LAS CEBADAS

A partir de genotipos exóticos y comerciales de cebada, se seleccionaron los genotipos a utilizar, en base a los diferentes comportamientos frente a mancha borrosa (cuadro 3).

La siembra se realizó aproximadamente dos semanas previo a la inoculación, que se realiza cuando las cebadas se encuentran en el estadio fenológico Z 1.2 – 2 hojas (Zadoks et al., 1974).

El procedimiento consta en primera instancia, de la preparación de macetas con igual cantidad de tierra limpia y la nivelación de la cama de siembra. Luego, se colocaron 4 semillas - elegidas según aspecto y tamaño - por cada genotipo, a igual profundidad de siembra y se cubrió con tierra homogenizando la superficie. Finalizada la siembra, se regó de forma uniforme durante 4 segundos cada maceta y se llevaron a cámara con condiciones controladas (fotoperíodo 12 horas y temperatura a 22°C).

Buscando optimizar el espacio, se sembraron 4 genotipos de cebada por maceta, numerándose en sentido horario para obtener una clara identificación (figura 5).



Figura 5. Disposición de semillas (izquierda) y cebadas sembradas (derecha)

Durante el crecimiento de las cebadas se regó según la humedad de la tierra de cada maceta y se eliminaron plantas ajenas al cultivo. Dos días previos a la inoculación se eliminaron plantas por fuera del estadio requerido para inocular y se despuntaron las plantas buscando un tamaño homogéneo.

Cuadro 3. Genotipos de cebada, criadero y comportamiento frente a mancha borrosa de acuerdo a INIA/INASE

<b>Genotipo</b>	<b>Criadero/origen</b>	<b>Susceptibilidad frente mancha borrosa</b>
Blondie (C)	MOSA <sup>1</sup>	Intermedia (2016)
Bowman (E)	ND - EEUU	Baja – intermedia (1994)
CI 5791 (E)	s/i	s/i
CI 6311 (E)	s/i	s/i
CLE 233 INIA Arrayán (C)	INIA	Intermedia (2016)
CLE 267 Arcadia (C)	INIA	Alta (2016)
CLE 280 INIA Cronos (C)	INIA	Intermedia (2016)
CLE 282 INIA Helios (C)	INIA	Intermedia – alta (2016)
CLE 290 (C)	INIA	Alta – intermedia (2016)
CLE 296 (C)	INIA	Baja – intermedia (2018)
CLHO 6311 (E)	Alemania	s/i
Danielle (C)	MOSA	Intermedia – alta (2016)
Explorer (C)	MOSA	Alta – intermedia (2016)
Grace (C)	MOSA	Alta (2016)
KWS Alicia (C)	FADISOL SA	Intermedia – alta (2016)
KWS Bambina (C)	FADISOL SA	Intermedia – alta (2016)
Lindwald (E)	s/i	s/i
MOSA 12 – 143 (C)	MOSA	Intermedia (2018)
MOSA 12 – 273 (C)	MOSA	Intermedia (2016)
MOSA 12 – 284 (C)	MOSA	Alta – intermedia (2016)
MOSA 12 – 290 (C)	MOSA	Intermedia (2018)
MOSA 13 – 100 (C)	MOSA	Intermedia (2018)
MOSA 13-123 (C)	MOSA	Intermedia – alta (2018)
MUSA 19 (C)	MOSA	Intermedia (2016)
MUSA 31 (C)	MOSA	Intermedia (2016)
MUSA 936 (C)	MOSA	Intermedia – alta (2016)
ND 17293 (E)	ND - EEUU	Baja – intermedia (2005)

<b>Genotipo</b>	<b>Criadero/origen</b>	<b>Susceptibilidad frente mancha borrosa</b>
ND 19074 (E)	ND – EEUU	s/i
ND 23122 (E)	ND – EEUU	Baja – intermedia (2001-2010)
ND 23180 (E)	ND - EEUU	Baja – intermedia (2001-2010)
ND 5883 (E)	ND - EEUU	Intermedia – alta (2001-2010)
NDB 112 (E)	EEUU	Baja (2001-2010)
Norteña Carumbé (C)	MOSA	Intermedia (2016)
Norteña Daymán (C)	MOSA	Intermedia (2016)
Odine (E)	s/i	s/i
Pr 434771 (E)	s/i	s/i
Schoner (E)	s/i	s/i
Stirling (E)	Australia	Intermedia – alta (1994)
Tolar (E)	Netherlands	Alta
TR 251 (E)	Canadá	s/i
TR 257 (E)	Canadá	s/i
TR 6 (E)	Canadá	Baja (2001-2010)
TX 7934 (E)	Texas - EEUU	Baja (2001-2010)
Umbrella (C)	MOSA	Intermedia (2016)

s/i: sin información

1\*\* MOSA: Maltería Oriental SA.

(E) Genotipos exóticas

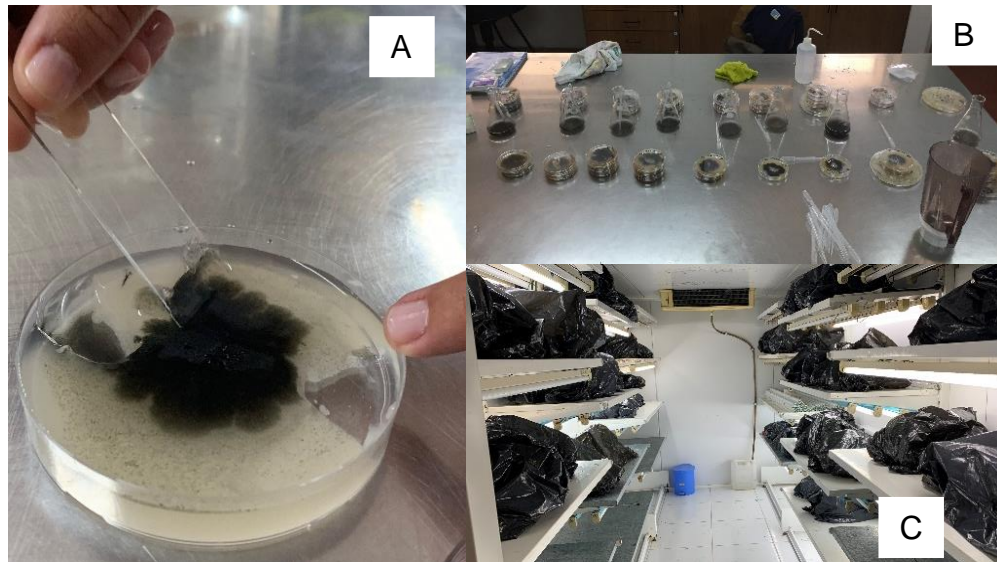
(C) Genotipos comerciales

ND: North Dakota

El año entre paréntesis indica el año de evaluación

### 3.3 OBTENCIÓN Y MULTIPLICACIÓN DEL INÓCULO E INOCULACIÓN

Para la cosecha, se vertió agua autoclavada en la placa y se hizo un raspado superficial con un portaobjeto, buscando extraer inóculo. Se licuó durante 15 segundos desagregando los conidios de la colonia y luego se filtró con una gasa con el fin de separar los conidios del micelio y medio PDA (figura 6). Una vez realizada la cosecha, se ajustó la concentración a 5000 conidios/ml de acuerdo al protocolo realizado por Fetch y Steffenson (1999), utilizando un hemacytómetro Hausser Scientific Horsham. Por último, se agregó una gota/50 ml de Tween 20 para disminuir la tensión superficial.



- A: extracción de inóculo mediante raspado superficial  
B: preparación de la solución de conidios  
C: macetas inoculadas cubiertas con bolsas negras durante las primeras 18 horas

Figura 6. Obtención del inóculo

Finalmente, se procedió a la inoculación. Se debe asegurar la uniformidad del tamaño de las plantas, que estén completamente sanas y que presenten dos hojas (Z 1.2). Se rociaron las plantas con 25 ml de solución, aplicado con un aspersor a presión constante de 10 lb/in<sup>2</sup> alcanzando toda la superficie foliar. Luego, se cubrió cada plántula inoculada con una bolsa plástica negra previamente rociada con agua y se llevó a cámara con condiciones controladas (sin fotoperíodo y temperatura a 22°C), buscando proveer de las condiciones óptimas para promover la germinación. Una vez pasadas 18 horas en estas condiciones, se retiraron las bolsas y se volvió a un fotoperíodo de 12 horas con igual temperatura. Los días posteriores a la inoculación, se controló la humedad de la tierra, regando cuando se consideró necesario.

Cada aislamiento fue inoculado en cada una de las cebadas utilizadas, a efectos de estudiar la virulencia de cada uno de ellos en todas los genotipos.

### 3.4 REGISTRO DE LAS RESPUESTAS DE INFECCIÓN

Mediante la escala de Fetch y Steffenson (1999) que se observa a continuación (figura 7), se evaluó la respuesta de infección de los genotipos a la mancha borrosa en la segunda hoja. Ésta se divide del 1 al 9, siendo del 1 al 3 de baja compatibilidad huésped-parásito, 4 y 5 intermedias y 6 al 9 alta compatibilidad. En los niveles de infección bajos se observan lesiones necróticas pequeñas (0,3 a 1,3 mm de largo y 0,3 a 0,7 mm de ancho) con clorosis marginal difusa o muy pequeña. En los niveles intermedios la infección muestra lesiones necróticas de tamaño mediano (1,4 a 3,9 mm y 0,7 a 1,3 mm de largo y ancho respectivamente) con un margen clorótico distinto pero restringido, mientras que los niveles altos de infección muestran lesiones necróticas grandes (4 a 8 mm de largo y 1,4 a 3,2 mm de ancho) con márgenes cloróticos distintos y grados variables de clorosis difusa en expansión.

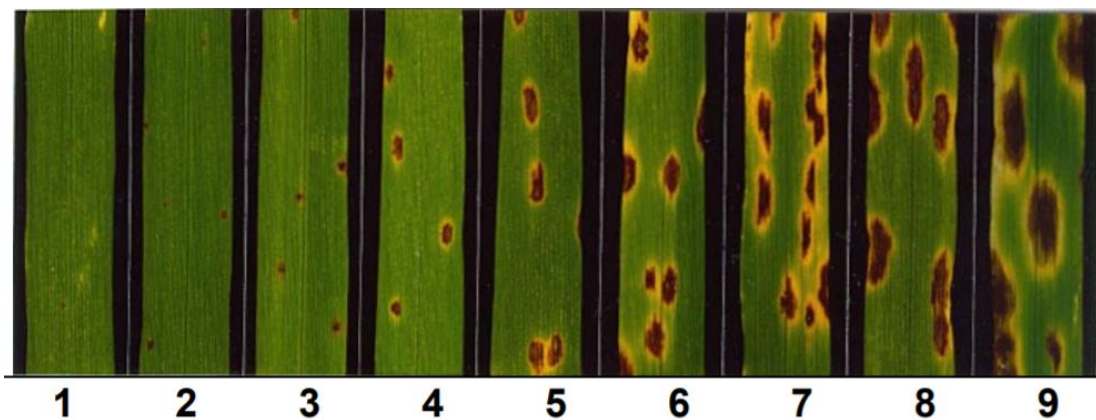


Figura 7. Escala de calificación de respuesta a la infección para plántulas de cebada infectadas con *Cochliobolus sativus*

Fuente: Fetch y Steffenson (1999).

Los niveles de respuesta de infección se evidenciaron 5-7 días post inoculación. Se observó la RI y tamaño de las lesiones según la escala cualitativa de 9 dígitos desarrollada por Fetch y Steffenson (1999), para cada planta de cada genotipo. Se leyó el segundo tercio de la lámina y preferentemente las hojas más nuevas.

#### 4. RESULTADOS

Para estudiar la variabilidad patogénica de diferentes aislamientos de *C. sativus* sobre cultivares de cebada, se realizaron cinco experimentos en los cuales se buscó conocer las respuestas de infección (RI), a través de las distintas combinaciones cultivar-aislado. En el cuadro 4 se presentan los resultados obtenidos para cada interacción. A su vez, se realizó la caracterización de los genotipos y de la virulencia de cada aislado, expresado en porcentaje.



Cuadro 4. Respuestas de infección (RI) de 44 genotipos de cebada inoculadas con 29 aislamientos de *Cochliobolus sativus*

Variedades	ND 17293	ND 19074	ND 23122	ND 5883	NDB 112
17.10.1 - 10	7,5	8,3	9,0	8,0	8,3
17.10.1 - 19	7,8	6,6	9,0	9,0	9,0
17.34.1 - 29	7,5	6,0	9,0	8,8	9,0
17.34.1 - 38	8,5	7,0	9,0	8,7	8,7
17.35.1 - 41	5,0	3,0	8,0	4,0	8,0
17.35.1 - 47	4,0	7,0	7,8	8,0	8,3
17.39.1 - 58	7,0	4,0	6,5	9,0	5,7
17.39.1 - 60	8,3	7,4	9,0	9,0	9,0
17.01.02 (N.Daymán)	4,0	5,8	8,3	4,9	5,3
17.01.02 I. CRONOS	3,0	3,0	5,0	5,0	3,0
17.01.02 EXPLORER	3,0	4,0	4,0	5,0	6,0
17.07.4 MUSA 936	4,0	4,0	7,0	5,0	6,0
17.07.4 N. Carumbé	3,0	2,0	3,0	2,0	3,0
17.09.01 UMBRELLA	6,0	5,0	7,0	4,0	3,0
17.09.01 NDB 112	3,0	2,0	3,0	3,0	3,0
11.04 B	9,0	6,0	9,0	9,0	9,0
11.04 B	8,0	7,0	9,0	9,0	9,0
17.40.1	9,0	5,3	9,0	6,3	5,5
17.40 2 A	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
17.40 2 B	9,0	8,5	9,0	9,0	7,7
17.57 1 A	8,5	6,8	9,0	6,8	7,0
17.57 2 A	9,0	5,5	9,0	8,5	9,0
17.57 2 B	9,0	8,3	9,0	9,0	8,5
17.57 3 A	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
17.57 3 B	9,0	9,0	9,0	8,3	9,0
17.58 2 A	7,5	9,0	9,0	9,0	-
17.58 2 B	5,5	6,0	7,5	8,0	8,5
17.62 2 A	5,0	5,3	9,0	9,0	9,0
17.62 2 B	8,3	3,0	8,8	9,0	9,0

(\*) sin dato

() sin evaluar

(-) sin planta

<b>Variedades</b>	<b>ODINE</b>	<b>Pr 434771</b>	<b>SCHONER</b>	<b>STEPTOE</b>	<b>STIRLING</b>
<b>17.10.1 - 10</b>	8,0	4,8	6,6	7,8	5,7
<b>17.10.1 - 19</b>	8,8	8,0	7,2	7,3	6,3
<b>17.34.1 - 29</b>	8,8	9,0	8,6	8,6	5,0
<b>17.34.1 - 38</b>	9,0	8,7	9,0	8,4	9,0
<b>17.35.1 - 41</b>	9,0	8,0	8,0	7,0	4,0
<b>17.35.1 - 47</b>	7,0	8,4	5,7	8,0	6,0
<b>17.39.1 - 58</b>	7,0	8,3	7,8	8,5	5,0
<b>17.39.1 - 60</b>	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
<b>17.01.02 (N.Daymán)</b>	6,9	6,8	6,0	5,3	4,8
<b>17.01.02 I. CRONOS</b>	4,0	4,0	5,0	3,0	4,0
<b>17.01.02 EXPLORER</b>	4,0	4,0	7,0	7,0	5,0
<b>17.07.4 MUSA 936</b>	7,0	7,0	7,0	4,0	
<b>17.07.4 N. Carumbé</b>	4,0	2,0	3,0	2,0	3,0
<b>17.09.01 UMBRELLA</b>	7,0	5,0	6,0	6,0	6,0
<b>17.09.01 NDB 112</b>	4,0	5,0	3,0	3,0	2,0
<b>11.04 B</b>	9,0	9,0	8,0	6,0	*
<b>11.04 B</b>	8,0	9,0	7,0	8,0	9,0
<b>17.40.1</b>	7,0	8,3	8,5	9,0	8,0
<b>17.40 2 A</b>	9,0	9,0	9,0	8,3	8,0
<b>17.40 2 B</b>	9,0	9,0	9,0	9,0	7,5
<b>17.57 1 A</b>	8,0	8,0	9,0	7,5	8,0
<b>17.57 2 A</b>	9,0	8,7	7,3	6,3	6,0
<b>17.57 2 B</b>	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
<b>17.57 3 A</b>	9,0	9,0	9,0	8,8	8,0
<b>17.57 3 B</b>	9,0	9,0	*	9,0	9,0
<b>17.58 2 A</b>	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
<b>17.58 2 B</b>	9,0	8,0	9,0	8,3	7,0
<b>17.62 2 A</b>	8,3	9,0	9,0	8,7	8,3
<b>17.62 2 B</b>	8,5	8,7	9,0	7,3	6,3

Variedades	STIRLING	TOLAR	TR6	TR 257	TX 7934	CLE 233 INIA ARRAYÁN
17.10.1 - 10	5,7	8,8	8,0	6,0	6,3	5,3
17.10.1 - 19	6,3	7,2	8,3	4,6	8,0	8,5
17.34.1 - 29	5,0	8,6	9,0	9,0	7,3	8,0
17.34.1 - 38	9,0	8,7	8,8	9,0	8,5	9,0
17.35.1 - 41	4,0	9,0	7,0	8,0	8,0	
17.35.1 - 47	6,0	8,2	5,8	5,5	7,0	8,3
17.39.1 - 58	5,0	6,7	8,8	7,5	7,5	9,0
17.39.1 - 60	9,0	8,5	8,7	8,8	8,0	8,0
17.01.02 (N.Daymán)	4,8	4,5	5,9	5,7	7,0	8,3
17.01.02 I. CRONOS	4,0	-	3,0	-	3,0	7,0
17.01.02 EXPLORER	5,0	5,0	4,0	3,0	2,0	8,0
17.07.4 MUSA 936		6,0	4,0	5,0	5,0	7,3
17.07.4 N. Carumbé	3,0	3,0	2,0	2,0	*	4,7
17.09.01 UMBRELLA	6,0	5,0	4,0	5,0	3,0	4,5
17.09.01 NDB 112	2,0	3,0	3,0	2,0	2,0	7,8
11.04 B	*	9,0	9,0	7,0	8,0	8,0
11.04 B	9,0	9,0	9,0	7,0	9,0	8,0
17.40.1	8,0	9,0	5,5	9,0	-	9,0
17.40 2 A	8,0	7,0	9,0	6,0	9,0	9,0
17.40 2 B	7,5	9,0	9,0	8,8	9,0	8,8
17.57 1 A	8,0	8,0	7,0	6,0	3,0	6,3
17.57 2 A	6,0	5,5	9,0	4,0	8,0	8,5
17.57 2 B	9,0	9,0	9,0	9,0	8,0	9,0
17.57 3 A	8,0	9,0	9,0	8,5	9,0	*
17.57 3 B	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
17.58 2 A	9,0	9,0	9,0	9,0	-	9,0
17.58 2 B	7,0	9,0	8,0	8,0	7,5	7,0
17.62 2 A	8,3	9,0	8,7	8,0	9,0	7,3
17.62 2 B	6,3	9,0	8,7	6,3	8,0	9,0

Variedades	CLE 267 ARCADIA	CLE 280 INIA CRONOS	CLE 282 INIA HELIOS	CLE 290	CLE 296
17.10.1 - 10	6,5	4,8	3,3	8,0	5,5
17.10.1 - 19	7,3	7,0	8,5	8,3	8,3
17.34.1 - 29	8,3	7,7	8,3	9,0	7,8
17.34.1 - 38	9,0	7,0	8,8	8,8	9,0
17.35.1 - 41					
17.35.1 - 47	9,0	5,3	6,0	8,8	7,5
17.39.1 - 58	8,7	7,8	7,8	8,8	9,0
17.39.1 - 60	6,3	8,0	8,5	8,3	7,8
17.01.02 (N.Daymán)	7,7	8,7	8,7	9,0	8,6
17.01.02 I. CRONOS	4,3	4,8	2,8	4,5	2,5
17.01.02 EXPLORER	8,8	8,8	9,0	9,0	7,8
17.07.4 MUSA 936	9,0	8,8	8,7	8,8	7,8
17.07.4 N. Carumbé	4,7	5,3	4,0	8,0	6,3
17.09.01 UMBRELLA	7,0	3,0	4,3	3,5	3,7
17.09.01 NDB 112	7,7	4,3	5,0	7,5	5,8
11.04 B	7,8	6,5	8,0	6,0	4,3
11.04 B	6,0	4,5	4,8	5,8	5,0
17.40.1	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
17.40 2 A	9,0	9,0	9,0	8,5	8,8
17.40 2 B	8,5	8,3	9,0	9,0	8,7
17.57 1 A	5,3	5,3	5,8	5,8	6,3
17.57 2 A	9,0	8,3	8,5	6,0	7,3
17.57 2 B	7,8	8,8	9,0	9,0	8,8
17.57 3 A	-	8,8	8,5	5,3	9,0
17.57 3 B	8,5	9,0	9,0	9,0	9,0
17.58 2 A	9,0	5,3	9,0	5,8	8,5
17.58 2 B	8,5	7,0	8,8	9,0	8,3
17.62 2 A	8,8	5,7	4,7	8,8	8,5
17.62 2 B	6,0	6,3	7,7	8,3	7,0

<b>Variedades</b>	<b>Danielle</b>	<b>Explorer</b>	<b>MUSA 19</b>	<b>MUSA 936</b>	<b>Norteña Daymán</b>
<b>17.10.1 - 10</b>	8,8	9,0	7,3	8,0	6,5
<b>17.10.1 - 19</b>	7,5	9,0	8,0	8,8	6,3
<b>17.34.1 - 29</b>	9,0	9,0	8,5	8,3	8,7
<b>17.34.1 - 38</b>	9,0	8,0	6,7	9,0	7,8
<b>17.35.1 - 41</b>					
<b>17.35.1 - 47</b>	7,8	8,3	6,7	7,5	2,7
<b>17.39.1 - 58</b>	9,0	7,0	6,8	8,3	8,3
<b>17.39.1 - 60</b>	8,0	7,5	8,8	6,8	3,5
<b>17.01.02 (N.Daymán)</b>	8,4	8,8	9,0	8,7	9,0
<b>17.01.02 I. CRONOS</b>	6,8	9,0	3,5	4,0	4,3
<b>17.01.02 EXPLORER</b>	8,8	9,0	8,3	7,5	7,3
<b>17.07.4 MUSA 936</b>	8,5	9,0	9,0	9,0	9,0
<b>17.07.4 N. Carumbé</b>	8,8	8,5	8,3	7,8	6,3
<b>17.09.01 UMBRELLA</b>	6,5	5,0	8,3	6,5	4,3
<b>17.09.01 NDB 112</b>	6,8	9,0	6,8	5,0	4,3
<b>11.04 B</b>	7,8	6,0	3,7	8,3	8,0
<b>11.04 B</b>	7,5	8,0	7,0	2,8	3,3
<b>17.40.1</b>	9,0	9,0	9,0	9,0	8,7
<b>17.40 2 A</b>	9,0	9,0	9,0	8,5	8,8
<b>17.40 2 B</b>	9,0	9,0	8,7	8,3	7,3
<b>17.57 1 A</b>	7,8	7,0	7,5	6,0	4,5
<b>17.57 2 A</b>	5,5	5,8	8,0	5,8	8,5
<b>17.57 2 B</b>	9,0	9,0	9,0	9,0	8,5
<b>17.57 3 A</b>	7,8	5,3	-	6,0	8,3
<b>17.57 3 B</b>	9,0	*	7,0	8,8	8,5
<b>17.58 2 A</b>	9,0	8,3	8,3	9,0	4,7
<b>17.58 2 B</b>	8,8	9,0	7,7	5,8	4,0
<b>17.62 2 A</b>	9,0	8,3	6,8	8,3	9,0
<b>17.62 2 B</b>	7,5	6,8	8,0	6,3	4,8

Variedades	KWS Aliciana	KWS Bambina	MUSA 31 (Ambev 31)	Norteña Carumbé	Umbrella
17.10.1 - 10	9,0	9,0	8,3	3,5	9,0
17.10.1 - 19	9,0	9,0	7,3	7,5	9,0
17.34.1 - 29	7,0	8,8	6,3	5,0	9,0
17.34.1 - 38	8,7	9,0	7,3	5,8	8,5
17.35.1 - 41					
17.35.1 - 47	7,0	7,5	3,7	3,5	8,5
17.39.1 - 58	7,3	8,0	7,3	7,8	9,0
17.39.1 - 60	6,0	7,8	7,5	3,0	6,0
17.01.02 (N.Daymán)	9,0	8,6	9,0	5,4	9,0
17.01.02 I. CRONOS	9,0	8,8	5,3	3,8	7,8
17.01.02 EXPLORER	8,8	8,7	8,8	8,0	9,0
17.07.4 MUSA 936	9,0	9,0	8,0	8,8	9,0
17.07.4 N. Carumbé	8,7	9,0	9,0	4,5	8,3
17.09.01 UMBRELLA	8,5	3,3	7,0	3,3	4,3
17.09.01 NDB 112	8,5	7,7	8,3	3,8	7,0
11.04 B	5,5	4,0	7,5	3,3	4,5
11.04 B	5,5	6,7	4,5	3,3	4,3
17.40.1	9,0	9,0	9,0	5,7	9,0
17.40 2 A	9,0	9,0	9,0	7,5	9,0
17.40 2 B	8,0	9,0	9,0	5,3	-
17.57 1 A	5,5	5,3	4,0	3,8	5,8
17.57 2 A	6,0	7,0	4,0	3,8	7,8
17.57 2 B	*	9,0	9,0	4,3	*
17.57 3 A	-	5,3	8,8	3,3	5,0
17.57 3 B	9,0	8,5	8,3	8,3	9,0
17.58 2 A	8,5	9,0	9,0	6,7	8,7
17.58 2 B	9,0	9,0	8,0	4,8	9,0
17.62 2 A	8,3	8,5	8,3	3,3	*
17.62 2 B	5,3	7,3	8,3	4,5	*

Variedades	Blondie	MOSA 13-123	MOSA 12 - 143	MOSA 12-273	MOSA 12 - 284
17.10.1 - 10	9,0	9,0	8,3	9,0	7,0
17.10.1 - 19	9,0	7,5	8,5	8,8	9,0
17.34.1 - 29	6,8	7,0	4,0	9,0	7,5
17.34.1 - 38	8,7	5,7	6,0	8,8	9,0
17.35.1 - 41		9,0	9,0	9,0	9,0
17.35.1 - 47	7,3	9,0	8,5	9,0	9,0
17.39.1 - 58	8,8	*	*	*	*
17.39.1 - 60	8,7	*	*	9,0	*
17.01.02 (N.Daymán)	9,0	6,8	6,7	8,8	6,9
17.01.02 I. CRONOS	7,8	3,5	5,5	9,0	6,8
17.01.02 EXPLORER	9,0	8,5	8,8	9,0	8,0
17.07.4 MUSA 936	8,8	9,0	8,5	9,0	8,8
17.07.4 N. Carumbé	8,8	7,8	6,7	8,8	5,3
17.09.01 UMBRELLA	5,3	5,8	4,7	8,8	5,0
17.09.01 NDB 112	8,5	8,5	9,0	6,8	5,5
11.04 B	4,0	3,8	6,8	7,5	8,7
11.04 B	-	4,0	4,5	4,5	*
17.40.1	7,5	*	*	*	*
17.40 2 A	8,8	9,0	7,3	9,0	9,0
17.40 2 B	9,0	9,0	8,3	9,0	9,0
17.57 1 A	5,3				
17.57 2 A	8,5	8,5	6,8	7,5	8,5
17.57 2 B	8,7				
17.57 3 A	5,0				
17.57 3 B	9,0	8,5	8,5	8,3	8,5
17.58 2 A	9,0	4,8	5,0	6,5	7,0
17.58 2 B	6,5				
17.62 2 A	5,3	9,0	9,0	9,0	9,0
17.62 2 B	5,8	9,0	9,0	9,0	*

<b>Variedades</b>	<b>MOSA 12-290</b>	<b>MOSA 13- 100</b>	<b>Grace</b>	<b>TR 251</b>	<b>BOWMAN</b>
<b>17.10.1 - 10</b>	8,5	3,8	9,0	-	-
<b>17.10.1 - 19</b>	9,0	8,8	9,0	-	-
<b>17.34.1 - 29</b>	9,0	4,0	9,0	-	-
<b>17.34.1 - 38</b>	8,5	6,3	8,8	-	-
<b>17.35.1 - 41</b>	9,0	9,0		-	
<b>17.35.1 - 47</b>	8,3	8,8	8,5	8,0	3,0
<b>17.39.1 - 58</b>	*	*	9,0	-	-
<b>17.39.1 - 60</b>	*	*	9,0	-	-
<b>17.01.02 (N.Daymán)</b>	8,5	5,6	9,0	-	9,0
<b>17.01.02 I. CRONOS</b>	9,0	4,5		-	-
<b>17.01.02 EXPLORER</b>	8,7	8,0		-	-
<b>17.07.4 MUSA 936</b>	9,0	8,5		-	-
<b>17.07.4 N. Carumbé</b>	8,8	7,0		-	-
<b>17.09.01 UMBRELLA</b>	8,7	8,0		-	-
<b>17.09.01 NDB 112</b>	8,5	5,5		-	-
<b>11.04 B</b>	8,0	4,0		-	-
<b>11.04 B</b>	7,8	5,3			-
<b>17.40.1</b>	9,0	9,0	9,0	-	-
<b>17.40 2 A</b>	9,0	9,0	9,0	-	-
<b>17.40 2 B</b>	9,0	9,0	0,5	-	-
<b>17.57 1 A</b>			6,5	-	
<b>17.57 2 A</b>	9,0	8,5	8,3	-	-
<b>17.57 2 B</b>			9,0	-	
<b>17.57 3 A</b>			*	-	
<b>17.57 3 B</b>	9,0	6,5	9,0	-	-
<b>17.58 2 A</b>	8,3	6,3	7,8	-	4,5
<b>17.58 2 B</b>			9,0	-	
<b>17.62 2 A</b>	9,0	9,0	7,0	-	-
<b>17.62 2 B</b>	9,0	9,0	8,7	-	-



Los datos revelan diferentes niveles de susceptibilidad según el genotipo evaluado (figura 8). Las frecuencias de las RI fluctuaron entre un 32,14% y 100% de susceptibilidad, mientras que los valores intermedios se encontraron entre 0% y 39,2% y los de resistencia variaron entre 0% y 33,3%.

Para el caso de MOSA 12-290 y TR 251 se encontró 100% de susceptibilidad. Cabe destacar, que el genotipo TR 251 fue evaluado con un único aislamiento debido a diversos factores que impidieron las demás combinaciones. Con un 96%, 95,6% y 94,7% de susceptibilidad, se encuentran los genotipos Danielle, MOSA 12-273 y Grace, respectivamente.

En el otro extremo, se destacaron los cultivares Norteña Carumbé y Bowman como los de mayor resistencia frente a *C. sativus*, con valores de 28,5% y 33,3% respectivamente. Al igual que para el caso de TR 251, los datos obtenidos del cultivar Bowman no se consideran representativos para el análisis, dado que fue evaluado únicamente con tres aislamientos.

Norteña Daymán, Lindwald y ND 17293 presentaron similar proporción de respuestas de infección alta, diferenciándose únicamente en las respuestas de infección bajas de cada uno (10,71%, 7,14% y 13,79% respectivamente).

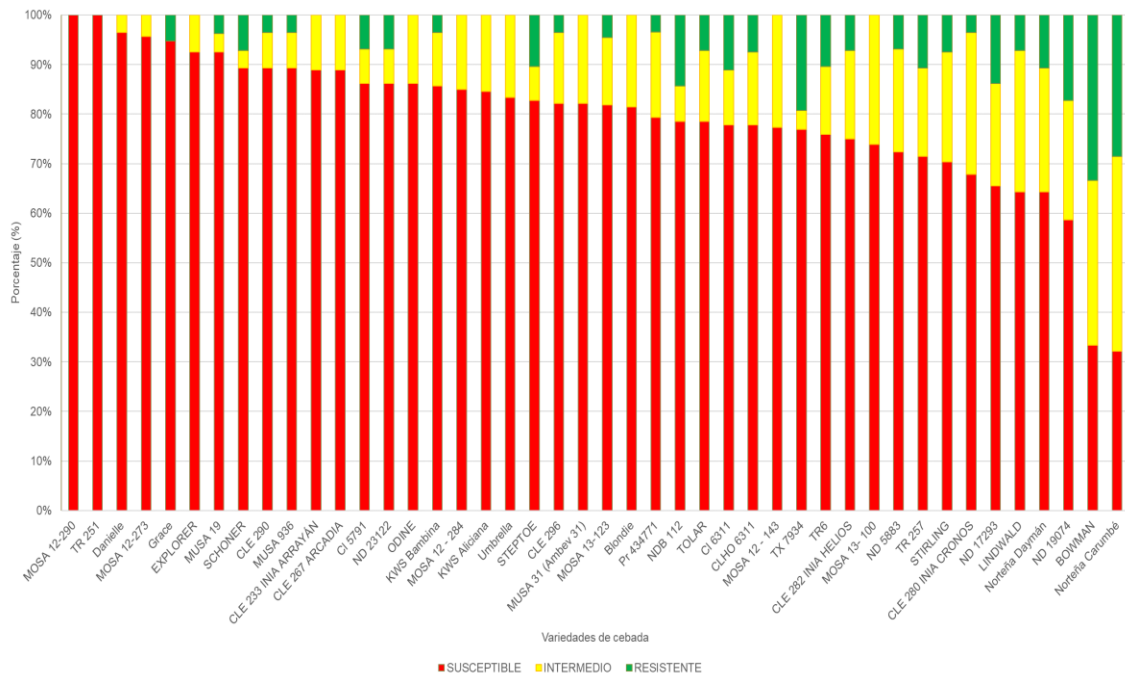


Figura 8. Porcentaje de respuestas de infección de 44 genotipos de cebada inoculados con 29 aislamientos de *Cochliobolus sativus*

A partir de los valores de RI según la escala de Fetch y Steffenson, se calcularon las medias para cada genotipo. Como se observa en la figura 9, las respuestas oscilaron entre 5,0 y 8,7, demostrando poca variación en el comportamiento, según la clasificación alta, intermedia o baja compatibilidad. De todas formas, según la escala de Fetch y Steffenson, en la cual se diferencian los niveles de infección del 1 al 9, se observaron respuestas variables.

De los 44 genotipos evaluados, Norteña Carumbé es el único que se encuentra dentro del grupo de compatibilidad intermedia, mientras que el resto se comportó en promedio, con alta compatibilidad huésped-parásito. En este caso no se considera al cultivar Bowman ya que como se mencionó anteriormente, los datos recabados no son representativos para un correcto análisis.

A través de los datos del desvío estándar se puede visualizar la baja variación entre respuestas de infección inducidas por el mismo aislamiento en un mismo genotipo, con valores entre 1 y 2,3 puntos de desvío.

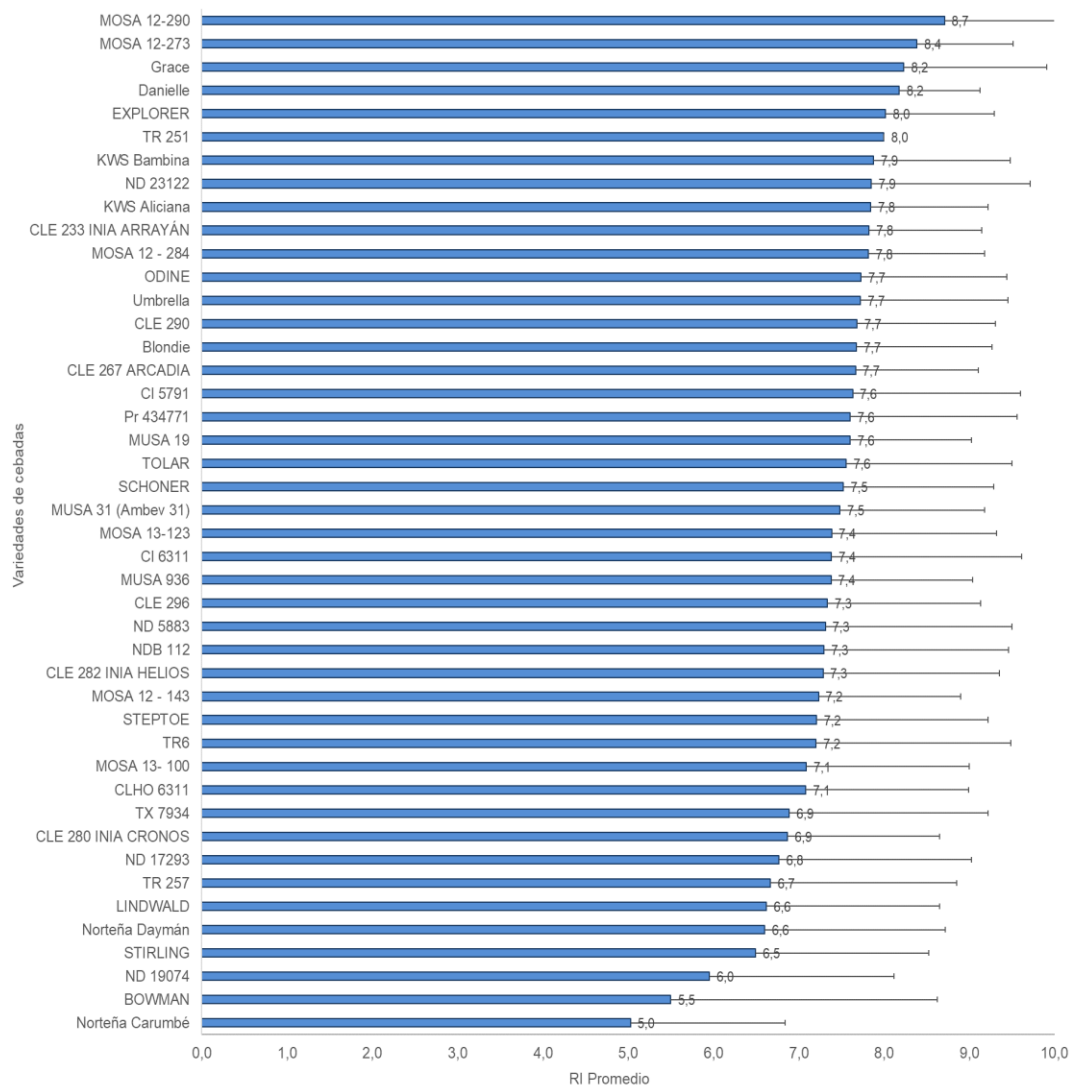


Figura 9. Media y desvío estándar de la respuesta de infección de 44 genotipos de cebada inoculados con 29 aislamientos de *Cochliobolus sativus*

Mediante la clasificación de los aislamientos según su virulencia (figura 10) se puede observar que los aislamientos 17.34.1-38, 17.40 2A y 17.57 3B presentaron solamente altas RI. En contraposición, 17.01.02 I. Cronos, 17.09.01 NDB 112 y 17.07.4 N. Carumbé demostraron ser los de menor virulencia con 25,6%, 39% y 42,5% de las RI, respectivamente.

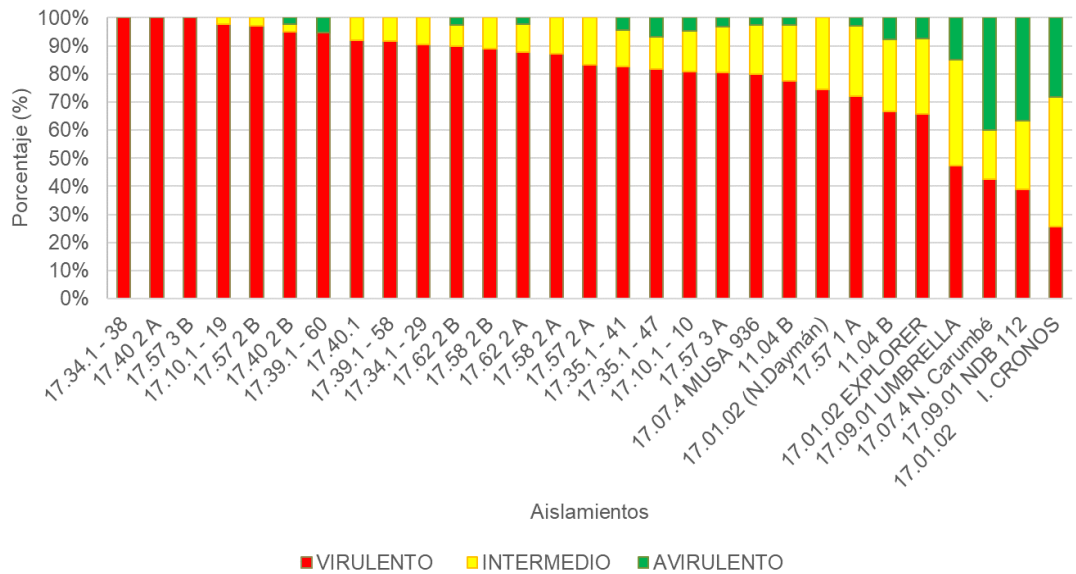


Figura 10. Porcentaje de la respuesta de infección de 29 aislamientos de *Cochliobolus sativus* inoculados en 44 genotipos de cebada

Los aislamientos 17.01.02 Norteña Daymán, 17.01.02 INIA Cronos, 17.01.02 Explorer, 17.07.4 MUSA 936, 17.07.4 Norteña Carumbé, 17.09.01 Umbrella y 17.09.01 NDB 112 demostraron un comportamiento poco virulento en los genotipos de cebada exóticas, mientras que presentaron alta virulencia para el caso de las cebadas comerciales (cuadro 5).

Al igual que en el caso de las cebadas, el promedio de RI de los aislamientos varió entre valores intermedios y altos (5,0 – 8,7), mostrando una variabilidad baja entre cultivares para un mismo aislamiento, con valores de 0,5 a 2,6 de desvío estándar (figura 11).

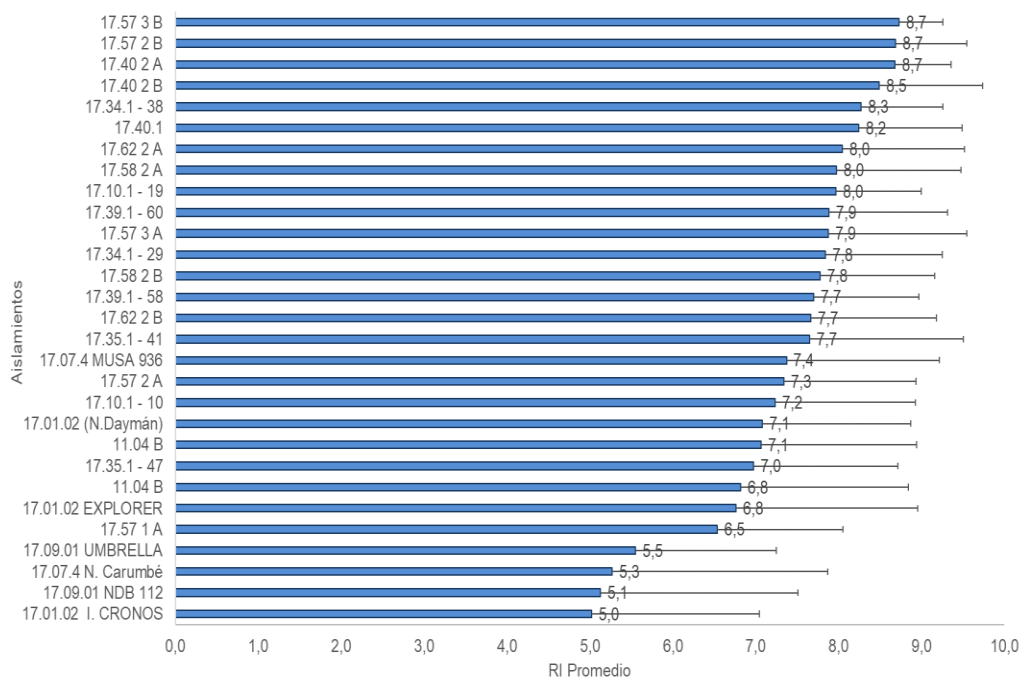


Figura 11. Media y desvío estándar de la respuesta de infección de 29 aislamientos de *Cochliobolus sativus* inoculados en 44 genotipos de cebada

Se presentaron situaciones en las cuales no se alcanzó la concentración objetivo del inóculo (5.000 conidios/ml). De todas formas, se observa en el cuadro 5 que para la mayoría de estos casos se alcanzaron respuestas de infección altas. Particularmente en el aislamiento 17.01.02 I. Cronos se observa que las RI fueron en gran parte bajas y para el 17.09.01 NDB 112 se obtuvieron RI bajas para el caso de las cebadas exóticas y mayoritariamente altas para las comerciales.

Junto con el registro de las respuestas de infección, se realizó una colección de muestras representativas de niveles intermedios y altos de compatibilidad huésped-patógeno. En el cuadro 6 se observa la información de las muestras colectadas.



Cuadro 6. Muestras colectadas de *Cochliobolus sativus* y genotipo muestreado

Número de muestra	Genotipo muestreado	Genotipo inoculado
17.10.1 – 10	N. Daymán	TR 257
		ND 19074
		Schoner
17.10.1 – 19	NDB 112	Tolar
		TR 6
		ND 23122
		Schoner
17.34.1 – 29	N. Daymán	Tx 7934
		CI 5791
		Tolar
		Odine
		Pr 434771
		TR 6
		ND 23122
17.34.1 – 38	ND 17 - 293	TR 257
		Pr 434771
		Schoner
17.35.1 – 41	MUSA 936	Odine
		Tolar
		CI 5791
		ND 19074
17.35.1 – 47	ND 5883	ND 17293
		CI 5791
		ND 19074
17.39.1 – 58	N. Daymán	ND 23122
		CI 6311
		TR 6
		TR 257
17.39.1 – 60	ND 5883	Tolar
		TR 257
		ND 23122
		ND 19074
		Steptoe
17.09.01	NDB 112	CLHO 6311
		Odine
		Pr 434771
		CI 6311
		Schoner
		NDB 112
Lindwall		
		Steptoe

<b>Número de muestra</b>	<b>Genotipo muestreado</b>	<b>Genotipo inoculado</b>
11.04 B	Lindwall	TR 6
		TR 257
		ND 23122
11.04 B	Perún	ND 17293
		ND 23122
		TR 6
		TR 257
		ND 17094
		CI 25791
17.01.02	N. Daymán	ND 23122
		Arrayán
17.40.1	Delta	CLHO 6311
		ND 23122
		Grace
17.40 2A	Skiff	Schoner
		CLE 233 Arrayán
17.40 2B	INIA Ceibo	Grace
		NDB 112
		Steptoe
		Norteña Carumbé
17.57 1A	Gilbert	CI 6311
17.57 1B	INIA Ceibo	CLE 296
17.57 2A	Umbrella	Umbrella
		Explorer
17.57 2B	N. Daymán	TR 6
		Steptoe
17.57 3A	INIA Ceibo	Tolar
17.57 3B	N. Daymán	TR 257
		TR 6
17.58 2A	NDB 112	CLE 267 Arcadia
		ND 23122
17.58 2B	Tolar	KWS Bambina
		ND 23122
17.62 2A	INIA Ceibo	ND 23122
17.10.1 – 19	NDB 112	Explorer
		TR 6
17.34.1 – 29	N. Daymán	KWS Bambina
17.34.1 – 38	ND 17 – 293	CLE 267 Arcadia
17.35.1 - 41	MUSA 936	CLHO 6311
17.35.1 – 47	ND 5883	Explorer
		ND 23122



<b>Número de muestra</b>	<b>Genotipo muestreado</b>	<b>Genotipo inoculado</b>
17.10.1 – 19	NDB 112	MOSA 12 – 290
17.34.1 – 38	ND 17 – 293	MOSA 12 – 273
17.35.1 – 41	MUSA 936	MOSA 13 – 100
17.35.1 – 47	ND 5883	MOSA 13 – 100
17.57 2A	Umbrella	MOSA 12 – 284
17.58 2A	NDB 112	MOSA 12 – 299
17.62 2A	INIA Ceibo	MOSA 12 – 290
17.01.02	N. Daymán	Danielle
17.01.02	CLE 280 (INIA Cronos)	MOSA 12 – 273
17.01.02	Explorer	CLE 282 (INIA Helios)
17.07.4	MUSA 936	CLE 267 Arcadia
17.07.4	N. Carumbé	MUSA 19
		KWS Bambina
		MOSA 12 – 284
17.09.01	Umbrella	MOSA 12 – 284
17.09.01	NDB 112	CLE 233 INIA Arrayán
		KWS Bambina
11.04 2B	Lindwall	KWS Bambina

## 5. DISCUSIÓN

El presente trabajo tiene como principal objetivo la evaluación de la virulencia de 29 aislamientos de *Cochliobolus sativus*, en un conjunto de cebadas; determinando de esta manera, los diferentes niveles de resistencia y virulencia que se presenten según el caso.

En comparación con los datos nacionales presentados por Gamba et al. (2010), los resultados del experimento arrojan información concordante respecto a la susceptibilidad de los genotipos y a la virulencia de los aislamientos utilizados. Se observó que únicamente un 5% de las cebadas presentaron una respuesta intermedia y que un 95% demostró ser susceptible. A su vez, un 85% de los aislados manifestó alto nivel de compatibilidad huésped-parásito, mientras que un 15% expresó niveles intermedios y no se obtuvieron casos que presentaran valores bajos o nulos. En general, esto no solo coincide con lo mencionado en el trabajo de Gamba y Estramil (2012), sino que confirma la baja resistencia de los cultivares de cebada presentes en Uruguay y los altos niveles de virulencia de *C. sativus* encontrados en los diferentes materiales. Sin embargo, al estudiar particularmente cada interacción genotipo-patógeno, se observaron datos contrastantes con la bibliografía consultada.

A partir de los datos recabados en ensayos del Programa Nacional de la Evaluación de Cultivares de INIA/INASE sobre el comportamiento sanitario de las cebadas frente a mancha borrosa, se compararon los resultados obtenidos con dichos comportamientos. Se observó que los cultivares CLE 267 Arcadia, Grace, CLE 282 INIA Helios, CLE 290, Danielle, Explorer, KWS Aliciana, KWS Bambina, MOSA 12-284, MOSA 13-123, MUSA 936, Norteña Carumbé, Bowman, Stirling y ND 5883 presentaron resultados similares a lo reportado en la bibliografía (INIA/INASE). Como se observa en el cuadro 4, todos estos genotipos salvo Bowman presentan susceptibilidad alta a mancha borrosa, por lo que en las condiciones del experimento donde todos los componentes del triángulo de la enfermedad se expresan, es de esperarse este mismo comportamiento. En el caso particular de Bowman, al obtener únicamente tres datos, no sería adecuado concluir sobre la similar respuesta de infección (baja-intermedia en la evaluación e intermedia en el experimento).

Por otra parte, Blondie, INIA Arrayán, INIA Cronos, CLE 296, MOSA 12-143, MOSA 12-273, MOSA 12-290, MOSA 13-100, MUSA 19, NDB 112, Norteña Daymán, Umbrella, ND 17293, ND 23122, ND 23180, TR 6 y TX 7934 difirieron de la información del Programa Nacional de Evaluación de Cultivares de INIA/INASE en relación a su respuesta a la infección. Es importante analizar

las condiciones en las que se realizaron las evaluaciones experimentales de INIA/INASE y compararlas con el método empleado en la tesis. En base a ello, se presentan diferentes hipótesis que explicarían los resultados contrastantes y que estarían, relacionadas directamente con los componentes del triángulo de la enfermedad, es decir, el huésped, el patógeno y las condiciones ambientales favorables a la infección. Además, de coincidir en tiempo y espacio, debe tenerse en cuenta que cada uno de estos factores debe tener ciertas características. El huésped debe ser susceptible, el patógeno virulento y se deben dar condiciones de presencia de agua libre durante 9 a 24 horas y temperaturas de 24 a 28°C. En primer lugar, la gran diferencia que implica realizar un experimento a campo versus uno a laboratorio. En la evaluación experimental a campo, la enfermedad ocurre espontáneamente pero no se asegura la presencia del patógeno y que éste sea virulento, ni el ambiente propicio, mientras que en el experimento a laboratorio se brindan todas las condiciones necesarias (cantidad suficiente de inóculo y condiciones ambientales favorables a la infección) para una exitosa interacción. Otra hipótesis sería el posible quiebre de resistencia por parte de los genotipos de cebada y el aumento en la fuente de inóculo que explicarían la mayor susceptibilidad a mancha borrosa. A su vez, podría deberse a un aumento en la virulencia del patógeno, incidiendo así en las respuestas de infección. Estas posibles explicaciones se pueden dar en conjunto, independientemente o en diferentes combinaciones.

También se encontraron diferencias en la respuesta de infección de los aislamientos frente a cebadas exóticas y comerciales, las cuales podrían deberse a dos factores. Por un lado, la interacción de aislamientos de *C. sativus* con genotipos desconocidos, explicando el mejor comportamiento de las cebadas exóticas frente a las comerciales. Y, por otro lado, una mayor virulencia de *C. sativus* frente a las cebadas comerciales con menores niveles de resistencia frente a estos aislamientos. A diferencia de lo estudiado por Fetch y Steffenson (1999), el genotipo NDB 112 expresó un comportamiento susceptible a *C. sativus*, concordando con lo mencionado en 2008 por Ghazvini y Tekauz, de que este material ya no es una fuente de resistencia.

Un punto importante a discutir es el comportamiento observado en el experimento en relación a la caracterización sanitaria de los cultivares que dieron origen a los aislamientos. Los aislamientos utilizados en el presente trabajo provinieron de hojas inoculadas, las cuales fueron previamente infectadas con inóculo originado de muestras de campo. Hubiese sido interesante contar con la información de todos los aislamientos utilizados que permitan un análisis más completo.

Para el caso de los aislamientos 17.09.01 (NDB 112), 17.10.1 (N. Daymán) y 17.10.1 (NDB 112) se evidenció un comportamiento llamativo a través de los años, destacándose un bajo grado de infección para las hojas inoculadas en 2017, contradiciéndose con lo obtenido para el mismo año a campo y para 2019. No se presenta información suficiente del experimento realizado en el 2017, lo cual imposibilita extraer conclusiones sobre esta variación. Por último, el aislamiento 17.09.01 (Umbrella) mantuvo un comportamiento intermedio-alto en las diferentes evaluaciones.

De acuerdo al protocolo de Fetch y Steffenson (1999) se debe ajustar una concentración de 5.000 conidios/ml para una caracterización inequívoca de la interacción huésped-patógeno. Existe un estudio realizado por Meldrum et al. (2004) con aislamientos de *C. sativus* en cebadas australianas, que demuestra que el efecto que tiene la concentración de inóculo en la respuesta de infección, depende de las horas de incubación post inoculación. Los resultados indican que diferentes concentraciones de inóculo (5.000, 10.000, 20.000, 40.000 y 80.000 conidios/ml) no tienen efecto significativo pasadas las 24 horas de incubación. Esto llevaría a suponer que una concentración menor a 5.000 conidios/ml no haría variar la RI cuando las horas de incubación son mayores a 24, como es el caso de este trabajo. Igualmente, sería necesario estudiar el caso con concentraciones más bajas para poder realizar un certero análisis, comparables con los datos recabados en este estudio.

Particularmente, en el caso del aislamiento 17.09.01 Umbrella estudiado con las cebadas comerciales, no se utilizó la concentración del inóculo recomendada por Fetch y Steffenson (1999). A pesar de contar con la concentración de conidios/ml de solución necesaria, no se alcanzó la cantidad suficiente de solución para completar los 25 ml requeridos para inocular. Este motivo, podría explicar la RI encontrada frente al mismo, la cual resultó en un valor promedio general de 5,5.

Al igual que en el trabajo realizado por Gamba y Estramil (2012), los resultados del experimento permiten concluir la existencia de diversos perfiles de agresividad con altos niveles de infección, provenientes de aislados de *C. sativus*. A pesar de no presentar gran variabilidad entre las combinaciones probadas, se detectaron interacciones, demostradas por la alta compatibilidad entre aislados y cebadas analizadas en el trabajo (ver figura 11).

## 6. CONCLUSIONES

El presente trabajo permitió caracterizar la variabilidad patogénica de *Cochliobolus sativus* en un conjunto de cebadas seleccionadas. En primera instancia, se destacan los altos niveles de agresividad de los aislamientos utilizados. Y, por otra parte, un acotado rango de respuestas de infección, que van desde 5,0 a 8,7 según la escala utilizada. Estos datos dan lugar al cuestionamiento de la resistencia genética de los cultivares evaluados.

Estudios realizados consideraron al genotipo NDB 112 como la principal fuente de resistencia frente a *Cochliobolus sativus* por varios años. Sin embargo, en 2008 se cuestionó esta premisa ya que se encontraron grupos con virulencia alta sobre el mismo. Coincidiendo con esta información, los datos obtenidos a partir del experimento realizado revelaron una alta susceptibilidad del cultivar frente a los aislamientos de *Cochliobolus sativus*. De todas formas, es importante continuar investigando sobre ello, para así recabar mayor cantidad de datos que permitan un análisis más profundo y detallado, así como una mejor caracterización de la susceptibilidad de NDB 112.

Este estudio permitió la colección de muestras representativas de altas respuestas de infección, de diversos genotipos interactuando con diferentes aislamientos. Esta colección proporciona una amplia base de material para futuras investigaciones.

Sería necesario probar un mayor número de aislamientos con un mayor número de cebadas para lograr resultados contundentes que permitan seleccionar genotipos en base a ello. De esta manera, se podría alcanzar una mejora en la resistencia genética de los genotipos utilizados a nivel comercial, buscando perfeccionar el desarrollo de tecnologías que reduzcan la brecha entre el rendimiento logrado y el potencial.

## 7. RESUMEN

*Bipolaris sorokiniana* es el agente causal de mancha borrosa en *Hordeum vulgare* (cebada), considerado de gran importancia dado su impacto en las pérdidas en calidad y rendimiento (hasta un 30%). Si bien existen diversos métodos para controlar esta enfermedad, se considera que la resistencia genética es la preferencial. De todas formas, es importante considerar dos factores que podrían hacer variar la efectividad del método: por un lado, el tipo y nivel de la resistencia, y, por otro lado, los cambios en la agresividad en la población del hongo. En el presente trabajo se estudió la virulencia de 29 aislamientos de *Cochliobolus sativus* en un conjunto de 44 genotipos de cebadas, con el objetivo de evaluar su variabilidad patogénica y los niveles de resistencia de las mismas. Los resultados del experimento arrojan información interesante respecto a la susceptibilidad de los genotipos y a la agresividad de los aislamientos utilizados. Se observó que únicamente un 5% de las cebadas presentaron una respuesta intermedia (4-5) y que un 95% demostró ser susceptible. A su vez, un 85% de los aislados manifestó alto nivel de compatibilidad huésped-parásito, mientras que un 15% expresó niveles intermedios y no se obtuvieron casos que presentaran valores bajos o nulos. Los genotipos que mostraron ser en promedio más susceptibles fueron MOSA 12 - 290 y TR 251 (100%), mientras que Norteña Carumbé y Bowman lograron los mejores comportamientos (32,14 y 33,33% de susceptibilidad respectivamente). Los aislamientos difirieron en su agresividad observándose que, el 17.34.1-38, 17.40 2A y 17.57 3B presentaron 100% virulencia y 17.01.02 I. Cronos, 17.09.01 NDB 112 y 17.07.4 N. Carumbé demostraron ser los de menor virulencia con 25,6%, 3% y 42,5%, respectivamente. En base a los datos, es posible demostrar la baja resistencia de los cultivares de cebada presentes en Uruguay y los altos niveles de agresividad de *C. sativus* encontrados en los diferentes materiales. Sin embargo, sería conveniente realizar un mayor número de experimentos que permitan confirmar esta premisa. Estudios enfocados en mejorar la resistencia genética de genotipos comerciales deberían ser prioridad en los programas de mejoramiento que tengan como principal objetivo el logro de genotipos resistentes.

Palabras clave: *Cochliobolus sativus*; *Hordeum vulgare*; Variabilidad patogénica; Nivel de resistencia.

## 8. SUMMARY

*Bipolaris sorokiniana* it's the causal agent of spot blotch in barley, considered one of the most important diseases because of its impact on quality and yield losses. Even though there are lots of methods to control the disease, genetic resistance is preferential. It's important to consider two factors that could vary the effectiveness of the method, such as, the type and level of resistance, and the possible changes of aggressiveness in the fungus population. This experiment studies the virulence of 29 isolates of *Cochliobolus sativus* in 44 barley genotypes, with the purpose of evaluating their pathogenic variability and the different levels of resistance that barleys present. Results bring up convincing information about the susceptibility of the genotypes and the aggressiveness of the isolates. Only 5% of the barleys presented intermediate response (4-5), while 95% showed to be susceptible. Regarded to the isolates, 85% exposed high level of compatibility host-pathogen, while 15% exhibited intermediate and none of them revealed low levels. The genotypes that showed the best behavior in average were MOSA 12 – 290 and TR 251, presenting 100% of susceptibility. On the other hand, Norteña Carumbé and Bowman showed a better behavior, with 32,14 and 33,33% respectively. The isolates differed on their aggressiveness, being 17.34.1-38, 17.40 2A y 17.57 3B the higher ones with 100% of virulence, while 17.01.02 I. Cronos, 17.09.01 NDB 112 y 17.07.4 N. Carumbé demonstrate to be the lower ones with 25,6%, 3% and 42,5% respectively. Based on the collected data, it's possible to demonstrate the low resistance that Uruguay barley genotypes present and the high levels of aggressiveness that *C. sativus* has. However, it would be convenient to carry out more experiments that can confirm this premise. Studies focused on improving genetic resistance of commercial varieties should be priority to research centers and development of new cultivars.

Key words: *Cochliobolus sativus*; *Hordeum vulgare*; Pathogenic variability; Levels of resistance.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Almgren, I.; Gustafsson, M.; Falt, A. S.; Lindgren, H.; Lijeroth, E. 1999. Interactions between root and leaf disease development in barley cultivars after inoculations with different isolates of *Bipolaris sorokiniana*. *Journal of Phytopathology*. 147:331-337.
2. Andrivon, D. 1993. Nomenclature for pathogenicity and virulence: the need for precision. *Phytopathology*. 83:889-890.
3. Anonymous, J. 2005. September estimates of production of principal field crops, Canada, 2005. *Statistics Canada Field Crop Report Series*. 84:13-24.
4. Arabi, M. I. E.; Jawhar, M. 2004. Identification of *Cochliobolus sativus* (spot blotch) isolates expressing differential virulence on barley genotypes in Syria. *Journal of Phytopathology*. 152:461-464.
5. Arias, G. 1985. Mejoramiento genético y producción de cebada cervecera en América del Sur. Santiago de Chile, FAO. 157 p.
6. Bakonyi, J.; Aponyi, I.; Fischl, G. 1997. Diseases caused by *Bipolaris sorokiniana* and *Drechslera tritici repentis* in Hungary. In: Duveiller, E.; Dubin, H. J.; Reeves, J.; McNab, A. eds. *Helminthosporium Blights of Wheat: spot Blotch and Tan Spot*. México, D. F., CIMMYT. pp. 80-85.
7. Briquet, M.; Vilret, D.; Goblet, P.; Mesa, M.; Eloy, M. C. 1998. Plant cell membranes as biochemical targets of the phytotoxin helminthosporol. *Journal of Bioenergetic and Biomembranes*. 30(3):285-295.
8. Castro, M.; Germán, S.; Pereyra, S.; Vázquez, D. 2005. Evaluación de cultivares de cebada. (en línea). In: *Jornada Cultivos de Invierno (2005, La Estanzuela, Colonia)*. Memorias. Montevideo, Uruguay, INIA. s.p. Consultado 15 oct. 2019. Disponible en [http://www.inia.org.uy/convenio\\_inase\\_inia/resultados/cebada05.htm](http://www.inia.org.uy/convenio_inase_inia/resultados/cebada05.htm)
9. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 2014. Evaluación de cultivares de cebada. (en línea). In: *Jornada Cultivos de Invierno (2014, La*



Estanzuela, Colonia). Memorias. Montevideo, Uruguay, INIA. s.p. Consultado 20 ago. 2019. Disponible en <http://www.inia.uy/Documentos/Privados/INIA%20La%20Estanzuela/Caracterización%20sanitaria%20de%20cultivares%20de%20trigo%20y%20cebada%202014.pdf>

10. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; Azzimonti, G. 2016. Evaluación de cultivares de cebada. (en línea). In: Jornada Cultivos de Invierno (2016, La Estanzuela, Colonia). Memorias. Montevideo, Uruguay, INIA. s.p. Consultado 20 ago. 2019. Disponible en <http://www.inia.uy/Documentos/Públicos/INIA%20La%20Estanzuela/CARACTERIZACION%20SANITARIA%20DE%20CULTIVARES%20DE%20TRIGO%20Y%20CEBADA%202016.pdf>
11. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 2018. Evaluación de cultivares de cebada. (en línea). In: Jornada Cultivos de Invierno (2018, La Estanzuela, Colonia). Memorias. Montevideo, Uruguay, INIA. s.p. Consultado 20 ago. 2019. Disponible en <http://www.inia.uy/Documentos/Públicos/INIA%20La%20Estanzuela/Actividades%202019/caracterización%20sanitaria%202018%2023%20abril.pdf>
12. Ceretta, S.; Castro, M. 1994. Evaluación de cultivares de cebada. (en línea). In: Jornada Cultivos de Invierno (1994, La Estanzuela, Colonia). Memorias. Montevideo, Uruguay, INIA. pp. 57 - 61 (Actividades de Difusión no. 4). Consultado 20 ago. 2019. Disponible en <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/10259/1/sad-4-p.-57-61.pdf>
13. Chang, N.; Wu, Y. 1998. Incidence and current management of spot blotch of wheat in China. In: Duveiller, E.; Dubin, H. J.; Reeves, J.; McNab, A.; eds. Helminthosporium Blights of Wheat: spot Blotch and Tan Spot. Mexico, D. F., CIMMYT. pp. 119-133.
14. Christensen, J. J. 1926. Physiological Specialization and Parasitism of *Helminthosporium sativum*. Minnesota, Estados Unidos. St Paul: University Farm. Minnesota Agriculture Experimental Station Technical Bulletin no. 37:101.
15. Couto Martins, P. 2019. Cultivos cerealeros e industriales. (en línea). Anuario Estadístico Agropecuario DIEA 2019: s.p. Consultado 20 agosto 2019. Disponible en

<https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2019/Anuario2019.pdf>

16. De Bernardi, L. A. 2018. Perfil de la cebada. (en línea). Buenos Aires, MGAP. 9 p. Consultado 21 ago. 2019. Disponible en [https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/ss\\_mercados\\_agropecuarios/informes/perfil-de-cebada-2019.pdf](https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/ss_mercados_agropecuarios/informes/perfil-de-cebada-2019.pdf)
17. Díaz, M. 1996. Enfermedades de cebada en Uruguay: reconocimiento, epidemiología y estrategias de manejo. In: Pereyra, S. ed. Manejo de enfermedades de invierno y pasturas. Montevideo. Unidad de Difusión e Información Tecnológica del INIA. pp. 109-110 (Serie Técnica no. 74).
18. Dubin, H. J.; Rajaram, S. 1996. Breeding disease-resistant wheats for tropical highlands and lowlands. *Annual Review of Phytopathology*. 34:503-526.
19. Duczek, L. J.; Jones-Flory, L. L. 1994. Relationship between common root rot, tillering and yield loss in spring wheat and barley. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 15:153-158.
20. Fetch, T. G. Jr.; Steffenson, B. J. 1994. Identification of *Cochliobolus sativus* isolates expressing differential virulence on two-row barley genotypes from North Dakota. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 16:202-206.
21. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 1999. Rating scales for assessing infection responses of barley infected with *Cochliobolus sativus*. *Plant Disease*. 83:213-217.
22. Gamba, F.; Estramil, E.; Ilardía, L. 2000. Pathogenic variability of *Cochliobolus sativus* in Uruguay. In: International Barley Genetics Symposium (8<sup>th</sup>., 2000, Adelaide, South Australia). Proceedings. Adelaide, South Australia, s.e. pp. 115-116.
23. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 2002. Variation in virulence within an Uruguayan population of *Cochliobolus sativus*. In: International Workshop on Barley Leaf Blights (2<sup>nd</sup>., 2002, Aleppo, Syria). Proceedings. Aleppo, Syria, s.e. pp. 59-62.
24. \_\_\_\_\_.; Pritsch, C.; Ziminov, M.; Alonso, O. 2010. Fenotipos de infección al estadio de plántula frente a diferentes aislamientos de

*Pyrenophora teres* f. sp. *teres* y *Cochliobolus sativus*. (en línea).  
In: Resultados experimentales de la evaluación nacional de cultivares de cebada cervecera: período 2009. Montevideo, INIA/INASE. pp. 32-34. Consultado ago. 2019. Disponible en [http://www.inia.org.uy/convenio\\_inase\\_inia/resultados/Publicacion%20Cebada%202010%20periodo%202009%20final.pdf](http://www.inia.org.uy/convenio_inase_inia/resultados/Publicacion%20Cebada%202010%20periodo%202009%20final.pdf)

25. \_\_\_\_\_.; Tekauz, A. 2011. Especialización fisiológica de una población local de *Pyrenophora teres* f.sp. *teres*. Agrociencia (Uruguay). 15(1):1-8. Consultado 13 ago. 2019. Disponible en [http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2301-15482011000100006](http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2301-15482011000100006)
26. \_\_\_\_\_.; Estramil, E. 2012. Agresividad diferencial en una población uruguaya de *Cochliobolus sativus* en cebada. Agrociencia (Uruguay). 16(1):108-114.
27. Ghazvini, H.; Tekauz, A. 2007. Virulence diversity in the population of *Bipolaris Sorokiniana*. Plant Disease. 91:814-821.
28. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 2008. Host-pathogen interactions among barley genotypes and *Bipolaris sorokiniana* isolates. Plant Disease. 92:225-233.
29. Knight, N.; Platz, G.; Lehmensiek, A.; Sutherland, M. W. 2010. An investigation of genetic variation among Australian isolates of *Bipolaris sorokiniana* from different cereal tissues and comparison of their ability to cause spot blotch on barley. Australasian Plant Pathology. 39 (3):207-216.
30. Kumar, J.; Schäfer, P.; Hückelhoven, R.; Langen, G.; Baltruschat, H.; Stein Najaran, S.; Kogel, K. H. 2002. *Bipolaris sorokiniana*, a cereal pathogen of global concern: cytological and molecular approaches towards better control. Molecular Plant Pathology. 3:185-195.
31. Kwasna, H. 1995. Ecology, taxonomy and nomenclature of Helminthosporia history and actual situation. In: Chelkowski, J. ed. Helminthosporia-Metabolites, Biology, Plant Diseases: *Bipolaris*, *Drechslera*, *Exserohilum*. Poznan, Poland, Institute of Plant Genetics. Polish Academy of Science. pp. 27-60.

32. Mathre, D. 1997. Compendium of Barley Disease. 2<sup>nd</sup>. ed. St Paul, MN, APS. 90 p.
33. Mehta, Y. R.; Riede, C. R.; Campos, L. A. C.; Kohli, M. M. 1992. Integrated management of major diseases in Brazil: an example for the Southern cone region of Latin America. *Crop. Protection*. 11:517-524.
34. Meldrum, S. I.; Platz, G. J.; Ogle, H. J. 2004. Pathotypes of *Cochliobolus sativus* on barley in Australia. *Australasian Plant Pathology*. 33:109-114.
35. Nagarajan, S.; Kumar, J. 1998. Foliar blights of wheat in India: germplasm improvement and future challenges for sustainable, high yielding wheat production. *In*: Duveiller, E.; Dubin, H. J.; Reeves, J.; McNab, A. eds. *Helminthosporium Blights of Wheat: spot Blotch and Tan Spot*. Mexico, D. F., CIMMYT. pp. 52-58.
36. Pereyra, S. 1996. Manejo de enfermedades en cereales de invierno y pasturas. *Serie técnica* 74:110-111. INIA, Uruguay.
37. Pereyra, S.; Stewart, S.; Abadie, T. 2003. Efecto de la rotación de cultivos en la población de *Bipolaris sorokiniana* en el suelo. *In*: Simposio: 40 años de Rotaciones Agrícolas-Ganaderas (2003, Colonia, Uruguay). Trabajos presentados. Montevideo, INIA. pp. 81-84 (Serie Técnica no. 134).
38. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; Díaz, M. 2005a. Manual de identificación de enfermedades en cereales de invierno. Montevideo, INIA. 120 p. (Boletín de Divulgación no. 61).
39. \_\_\_\_\_. 2005b. Uso de fungicidas en cebada. *In*: Jornada Técnica de Cultivos de Invierno (2005, Colonia, Uruguay). Memorias. Montevideo, INIA. p.irr.
40. \_\_\_\_\_.; Germán, S. 2011. Manchas foliares en cebada: reconocimiento, epidemiología y estrategias de manejo. *In*: Pereyra, S.; Díaz de Ackermann, M.; Germán, S.; Cabrera, K. eds. *Manejo de enfermedades en trigo y cebada*. Montevideo, INIA. pp. 149-155 (Serie Técnica no. 189).
41. Pritsch, C.; Albín, J.; Rodríguez, S.; Pravia, V.; Pereyra, S.; Gamba, F. 2006. Genetic diversity of a local collection of *Cochliobolus sativus*

revealed by RAPD analysis. In: International Workshop on Barley Leaf Blights (3<sup>rd</sup>., 2006, Alberta, Canada). Proceedings. Edmontona, Alberta, Canada, s.e. pp. 1-158.

42. Rezzano, G.; Wyaux, P. 2018. Variabilidad patogénica de una población uruguaya de *Cochliobolus sativus* en cebada. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. pp. 15-17.
43. Rodríguez, S. 2011. Diversidad genética y funcional en la resistencia de la cebada a mancha borrosa. Tesis Magister en Ciencias Agrarias opción Ciencias Vegetales. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. pp. 5-6.
44. Ruckstuhl, M. 1998. Population structure and epidemiology of *Bipolaris sorokiniana* in the rice–wheat cropping pattern of Nepal. In: Duveiller, E.; Dubin, H. J.; Reeves, J.; McNab, A. eds. Helminthosporium Blights of Wheat: spot Blotch and Tan Spot. Mexico, D. F., CIMMYT. pp. 88-106.
45. Shaner, G.; Stromberg, E. L.; Lacy, G. H.; Barker, K. R.; Pirone, T. P. 1992. Nomenclature and concepts of pathogenicity and virulence. Annual Review of Phytopathology. 30:47-66.
46. Shapiro-Illan, D. I.; Fuxa, J. R.; Lacey, L. A.; Onstad, D. W.; Kaya, H. K. 2005. Definitions of pathogenicity and virulence in invertebrate pathology. (en línea). Journal of Invertebrate Pathology. 88:1-7. Consultado 20 ago. 2019. Disponible en <https://naldc.nal.usda.gov/download/39680/PDF>
47. Silva, M. P. 2011. Variabilidad patogénica, diversidad genética y estructura poblacional de *Cochliobolus sativus*, agente causal de la mancha borrosa de la cebada. Tesina Lic. en Ciencias Biológicas. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Ciencias. pp. 17-31.
48. Singh, R. V.; Singh, A. K.; Singh, S. P. 1998. Distribution of pathogens causing foliar blights of wheat in India and neighboring countries. In: Duveiller, E.; Dubin, H. J.; Reeves, J.; McNab, A. eds. Helminthosporium Blights of Wheat: spot Blotch and Tan Spot. Mexico, D. F. CIMMYT. pp. 59-62.

49. UBA. FA (Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía, AR). s.f. Herbario virtual. (en línea). Buenos Aires. p. irr. Consultado 13 ago. 2019. Disponible en [http://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page\\_id=93](http://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=93)
50. Valjavec-Gratian, M.; Steffenson, B. J. 1997. Pathotypes of *Cochliobolus sativus* on barley in North Dakota. *Plant Disease*. 81:1275-1278.
51. Vanderplank, J. E. 1968. Disease resistance in plants. New York, Academic Press. 4 p.
52. Van Leur, J. G.; Alamdar, M. Z.; Khawatmi, S. 1997. Effects of *Cochliobolus sativus* on yield of barley under experimental conditions in Northern Syria. *Australian Journal of Agriculture Research*. 48:1-7.

## 10. ANEXOS

Anexo 1. Situaciones en las que hubo sobrante de agua para lograr la concentración de conidios necesaria para realizar la inoculación

	17.35.1 - 47	17.01.02 INIA CRONOS	17.01.02 N. Daymán	17.40.1	17.40 2A	17.57 3 A	17.57 3B	17.34.1 - 29
CI 5791					-22,5			
CI 6311								
CLHO 6311								
LINDWALD								
ND 17293								
ND 19074		-17,5					-24	
ND 23122								-52,5
ND 5883								
NDB 112	-60		-2			-14		
ODINE								
Pr 434771								
SCHONER								
STEPTOE								
STIRLING								
TOLAR								
TR6		-17,5						
TR 257								
TX 7934				-45				
CLE 233 INIA ARRAYÁN					-22,5		-24	
CLE 267 ARCADIA								
CLE 280 INIA CRONOS								
CLE 282 INIA HELIOS								
CLE 290						-14		
CLE 296								-52,5
Danielle								
EXPLORER								
MUSA 19		-17,5						
MUSA 936						-14		
Norteña Daymán								
KWS Alicia			-27					
KWS Bambina								
MUSA 31 (Ambev 31)							-24	
Norteña Carumbé						-14		
Umbrella								
Blondie								
MOSA 13-123								
MOSA 12 - 143								
MOSA 12-273								
MOSA 12 - 284								
MOSA 12-290								
MOSA 13- 100	-22,5							
Grace				-45	-36	-22,5		
TR 251		-17,5					-24	-52,5
BOWMAN	-22,5							

