

Sensibilidad de aislamientos de *Phytophthora infestans* procedentes de *Solanum tuberosum* a tres fungicidas sistémicos

Solanum tuberosum isolate sensitivity to *Phytophthora infestans* when using three systemic fungicides



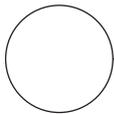
HAROLD ANDRÉS CHAÑAG^{1, 2}
SANDRA LORENA ÁLVAREZ¹
LUZ ESTELA LAGOS¹
DIANA MARCELA BURBANO-DAVID¹

Aislamiento STG075 de *P. infestans* aislado de *S. tuberosum* en Guachucal, Colombia.

Foto: H.A. Chañag

RESUMEN

Phytophthora infestans, es el agente causal de una de las enfermedades más limitantes de cultivos de papa (*Solanum tuberosum*) en el departamento de Nariño causando que los agricultores utilicen de forma intensiva diferentes fungicidas, llegando a representar el 30% de los costos de producción, siendo un grave problema ambiental y de salud pública. El propósito de esta investigación es apoyar los programas de manejo integrado de enfermedades a partir de la generación de una línea base de sensibilidad de 20 aislamientos de *P. infestans* del departamento de Nariño frente a tres fungicidas sistémicos comerciales compuestos por Metalaxil 8% + Mancozeb 64%, Cimoxanil 6% + Propineb 70% y Fluopicolide 6% + Propineb 66,7%. Este estudio se llevó a cabo siguiendo la metodología *in vitro* utilizando cinco dosis basadas en una escala exponencial. Los resultados mostraron un comportamiento heterogéneo donde algunos aislamientos presentaron resistencia al fungicida compuesto por Metalaxil + Mancozeb, alcanzando valores promedio de EC50 de $6,67 \mu\text{g mL}^{-1}$, mientras que para los fungicidas compuestos por Cimoxanil + Propineb y Fluopicolide + Propineb se presentaron niveles de sensibilidad intermedia y sensibles con valores de EC50 promedio de $1,57 \mu\text{g mL}^{-1}$ y $2,61 \mu\text{g mL}^{-1}$. Por otra parte, la tasa de esporulación se redujo en su totalidad para los tres fungicidas cuando se evaluaron las dosis de 100, 1.000, 10.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$.



Palabras clave adicionales: resistencia a los fungicidas; Peronosporales; cimoxanil; fluopicolide; metalaxil; papa.

¹ Universidad de Nariño, Grupo de Investigación Genética y Evolución de Organismos Tropicales, San Juan de Pasto (Colombia). ORCID Chañag, H.A.: 0000-0002-2749-0367; ORCID Álvarez, S.L.: 0000-0002-9464-5429; ORCID Lagos, L.E.: 0000-0002-5152-3413; Burbano-David, D.M.: 0000-0003-0109-3088

² Autor para correspondencia. harold.a963@hotmail.com

ABSTRACT

Phytophthora infestans is the causative agent of one of the most limiting diseases in potato crops (*Solanum tuberosum*) in the Department of Nariño, causing farmers to intensively use different fungicides, which reach 30% of production costs and are a serious environmental and public health problem. The purpose of this research was to support integrated disease management programs based on the generation of a baseline sensitivity of 20 *P. infestans* isolates from the Department of Nariño to three commercial fungicides composed of Metalaxyl 8% + Mancozeb 64% , Cimoxanil 6% + Propineb 70% and Fluopicolide 6% + Propineb 66.7%. This study was carried out using the *in vitro* methodology and five doses on an exponential scale. The results showed a heterogeneous behavior where some isolates showed resistance to the fungicide composed of Metalaxil + Mancozeb, reaching average EC₅₀ values of 6.67 $\mu\text{g mL}^{-1}$; while for the fungicides composed of Cimoxanil + Propineb and Fluopicolide + Propineb, there were intermediate and sensitive sensitivity levels with average EC₅₀ values of 1.57 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and 2.61 $\mu\text{g mL}^{-1}$. On the other hand, the sporulation rate was reduced in its entirety with the three fungicides for the evaluated doses of 100; 1,000; 10,000 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Additional key words: resistance to fungicides; Peronosporal; cymoxanil; fluopicolide; metalaxil; potato.

Fecha de recepción: 13-03-2018 Aprobado para publicación: 30-11-2018

INTRODUCCIÓN

La “gota” o “tizón tardío” es uno de los problemas más limitantes del cultivo de papa causado por el patógeno *Phytophthora infestans*, esta enfermedad es capaz de afectar el follaje, tallos y el tubérculo en cualquier momento de desarrollo de la planta incluso en el almacenamiento (Marín y Mira, 1998) de no realizarse un control adecuado y preciso esta enfermedad puede llegar a causar el 100% de severidad (Montes *et al.*, 2012). Esta enfermedad cobra importancia en el país puesto que para el 2017 se cosecharon 162.879 ha de papa con una producción de 3'706.563 t, siendo los departamentos de Cundinamarca, Boyacá y Nariño los principales productores (DANE – ENA, 2018), donde se siembran materiales altamente susceptibles como las variedades Diacol Capiro, Parda Pastusa, ICA Nevada y Tuquerreña que, además, los municipios productores presentan condiciones climáticas favorables para el desarrollo de esta enfermedad.

La alternativa más eficiente para el control de esta problemática se basa principalmente en el uso intensivo de fungicidas con moléculas protectantes y sistémicas (Granada *et al.*, 2002) que representa un costo que oscila entre 10 y 30% del valor total de la producción de los cultivos de papa en el país (Jaramillo, 2004). Siendo los productos con moléculas sistémicas los más eficientes que presentan diferentes modos de acción como, por ejemplo, metalaxil afecta la síntesis de ARN ribosomal y por ende la síntesis de proteínas reduciendo el crecimiento del

micelio (Nuninger *et al.*, 1995); Cimoxanil por su parte posee un modo de acción multisitio y trans-laminar que incluye la inhibición de la síntesis de ADN, ARN, aminoácidos y lípidos, además afecta la respiración celular y la permeabilidad de la membrana celular (Erwin y Ribeiro, 1996; Garcia *et al.*, 2008) y finalmente, Fluopicolide, ingrediente activo relativamente nuevo que se clasifica como piridinil-metil-benzamida que interrumpe la división celular y la mitosis actuando sobre las proteínas como la espectrina encargada de la estabilidad del citoesqueleto del patógeno (Briggs *et al.*, 2006; FRAC, 2018).

El uso intensivo (hasta 18 aspersiones durante el ciclo del cultivo) de fungicidas sistémicos a lo largo del tiempo generan resistencia lo que se define como la disminución temporal de la sensibilidad a un determinado fungicida, resultado de la adaptación del patógeno. Así, por ejemplo, en el año 2001 se determinó que cerca del 75% de los aislamientos colectados en el departamento de Antioquia resultaron insensible a Metalaxil (Jaramillo, 2004), mientras que los resultados de sensibilidad a Cimoxanil han resultado variables (Ochoa, 2004).

Teniendo en cuenta la problemática el objetivo de la presente investigación se centró en determinar el nivel de sensibilidad de aislamientos de *P. infestans* a tres fungicidas sistémicos, con el fin de establecer acciones de monitoreo que apoyen a la toma de decisiones

relacionadas con el uso de fungicidas de síntesis química en el cultivo de la papa en Colombia, puesto que la característica de resistencia al no ser heredable puede ser revertida por cambios en las estrategias de control químico (Pérez y Forbes, 2008).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material evaluado

Las pruebas de sensibilidad se realizaron con 20 aislamientos de *P. infestans* obtenidos de *Solanum tuberosum* y *S. phureja* en el Departamento de Nariño y hacen parte del cepario del grupo de investigación de Genética y Evolución de Organismos Tropicales de la Universidad de Nariño (Tab. 1).

Tabla 1. Información aislamiento aislamientos de *Phytophthora infestans*.

Código aislamiento	Localidad	Hospedero
SPP031	Pasto	<i>S. phureja</i>
SPT055	Túquerres	<i>S. phureja</i>
SPT056	Túquerres	<i>S. phureja</i>
STA083	Aldana	<i>S. tuberosum</i>
STG075	Guachucal	<i>S. tuberosum</i>
STG105	Pasto	<i>S. tuberosum</i>
STI155	Ipiales	<i>S. tuberosum</i>
STI169	Ipiales	<i>S. tuberosum</i>
STP062	Pasto	<i>S. tuberosum</i>
STP063	Pasto	<i>S. tuberosum</i>
STP067	Pasto	<i>S. tuberosum</i>
STP113	Pasto	<i>S. tuberosum</i>
STS035	Sapuyes	<i>S. tuberosum</i>
STS037	Sapuyes	<i>S. tuberosum</i>
STT144	Túquerres	<i>S. tuberosum</i>
STT146	Túquerres	<i>S. tuberosum</i>
STT159	Túquerres	<i>S. tuberosum</i>
STT161	Túquerres	<i>S. tuberosum</i>
STT162	Túquerres	<i>S. tuberosum</i>

Determinación de sensibilidad *in vitro* de los aislamientos

Para la determinación del efecto de los fungicidas sobre el patógeno se utilizaron los productos

comerciales compuestos por Metalaxil 8% + Mancozeb 64%, Cimoxanil 6% + Propineb 70% y Flupicolide 6% + Propineb 66,7%, con el fin de asegurar la reproducibilidad del ensayo se hicieron tres replicas y tres repeticiones en el tiempo de cada tratamiento y un testigo absoluto sin fungicida. Las dosis evaluadas se calcularon en base a una escala exponencial, inicialmente se prepararon las soluciones stock a una concentración de 100.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a partir de las cuales se prepararon las diferentes concentraciones que fueron adicionadas en el medio de cultivo agar tomate – arveja. El inóculo de 5 mm de diámetro se tomó de la zona de crecimiento activo de cultivos de 10 d y fue ubicado en el centro de cada caja petri con agar Tomate Arveja previamente suplementada con fungicida. Una vez efectuada la inoculación, las cajas petri se sellaron herméticamente y se incubaron a temperatura ambiente y oscuridad durante 10 d, desde el primer día se registró fotográficamente el crecimiento micelial y con los resultados de crecimiento final se calculó el porcentaje de inhibición.

Al décimo día se tomó el micelio formado en cada caja petri y se depositó en un volumen de 1,5 mL de agua destilada estéril, posteriormente se sometió a vortex por 30 s y se tomaron 100 μL de esta solución para realizar el conteo de esporangios en cámara de Neubauer y se expresó como número de esporangios sobre área de crecimiento final para cada uno de los aislamientos por tratamiento.

Determinación EC_{50}

Se realizó un análisis Probit para encontrar la EC_{50} (concentración que reduce el crecimiento radial en un 50% respecto al control) con los valores de inhibición y concentración para cada uno de los aislamientos basado en un análisis de regresión lineal. Teniendo en cuenta los valores de EC_{50} calculados y de acuerdo con la clasificación de sensibilidad establecida por Wang *et al.* (2002).

Análisis de datos

Para determinar la existencia de diferencias significativas en esta investigación se realizaron tablas de contingencia con el programa Microsoft office Excel y se aplicó la prueba de Kruskal Wallis para comparar las concentraciones en el programa Minitab® 17.1.0 (© 2013 Minitab Inc).

RESULTADOS

Metalaxil 8% + Mancozeb 64%

Estos fungicidas redujeron el crecimiento del patógeno entre el 29 y 69% con las dosis 1 y 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, alcanzando el 100% de reducción del crecimiento cuando se utilizaron las dosis 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y 10.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ las cuales fueron letales para el inóculo. La prueba de Kruskal Wallis mostró que existen diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$) entre el control y los tratamientos (Tab. 2). Por otra parte, la acción antiesporulante de este fungicida se hizo efectiva a partir del tratamiento correspondiente a la dosis de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ hasta la dosis de 10.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ inhibiendo el 100% la producción de esporangios (Tab. 3).

A partir de los resultados de inhibición se obtuvo el valor de la dosis media efectiva (EC_{50}), encontrando que estos variaron entre 3,26 $\mu\text{g mL}^{-1}$ en el aislamiento STA084 hasta 12,21 $\mu\text{g mL}^{-1}$ en el aislamiento STP046 con un promedio de 6,67 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Fig. 1) catalogando el 20% de los aislamientos resistentes y el 80% con sensibilidad intermedia.

Cimoxanil 6% + Propineb 70%

La concentración de 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ causó una reducción promedio del 25% del crecimiento del patógeno con respecto al control y algunos aislamientos presentaron una alta sensibilidad a este producto, puesto que con la dosis mínima sus crecimientos fueron inhibidos en un 45% (aislamiento STI168) y 40% (aislamiento STT162). Cuando se evaluó la dosis de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$, los porcentajes de inhibición presentaron un promedio del 89%, mientras que en las dosis superiores a esta (100, 1.000 y 10.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) el porcentaje de inhibición fue 100% letal para el inóculo. Se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre el control y las concentraciones evaluadas (1, 10, 100, 1.000, 10.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Asimismo, hubo diferencias estadísticas ($P \leq 0,05$) entre los tratamientos evaluados siendo las concentraciones de 1 y 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ diferentes a las demás concentraciones (Tab. 4). La acción antiesporulante de este fungicida se evidenció a partir de la dosis 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. El análisis estadístico mostró que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos evaluados, siendo las dosis 1 y 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ diferentes ($P \leq 0,05$) a las dosis 100 hasta 10.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, concentraciones en las cuales se inhibió el 100% la esporulación en todos los aislamientos (Tab. 5).

Tabla 2. Prueba de Kruskal Wallis (Bonferroni corrected) para porcentaje de inhibición entre concentraciones del fungicida Metalaxil 8% + Mancozeb 64%.

Dosis ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Control	1	10	100	1.000	10.000
Control	1					
1	0,02863	1				
10	0,00044	0,18492	1			
100	0	0	0,00002	1		
1.000	0	0	0,00002	1	1	
10.000	0	0	0,00002	1	1	1

Tabla 3. Prueba de Kruskal Wallis (Bonferroni corrected) para tasa de esporulación entre concentraciones del fungicida Metalaxil 8% + Mancozeb 64%.

Dosis ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Control	1	10	100	1.000	10.000
Control	1					
1	0,52906	1				
10	0,51616	0,98418	1			
100	0	0	0	1		
1.000	0	0	0	1	1	
10.000	0	0	0	1	1	1

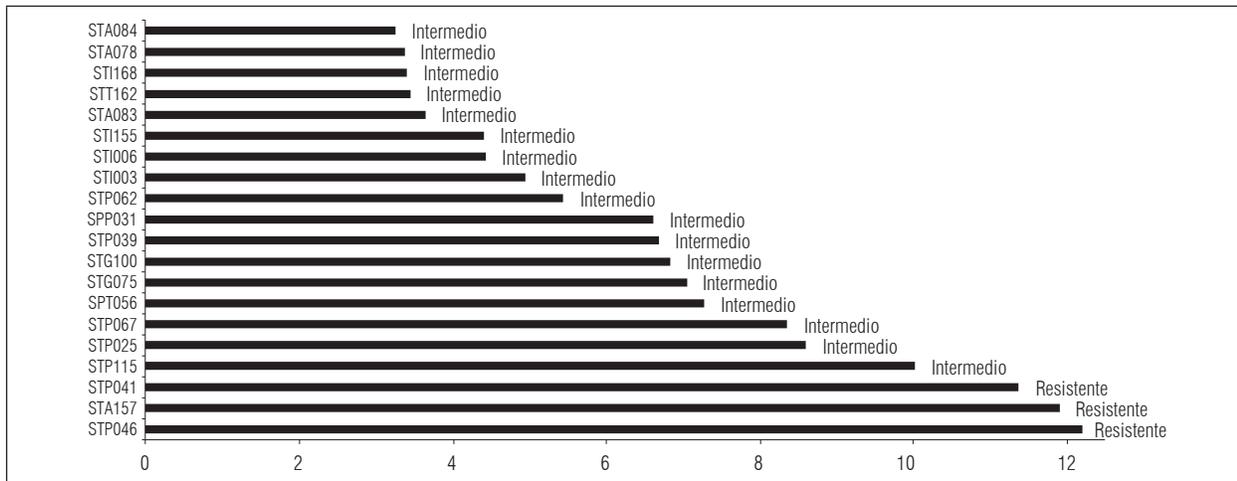


Figura 1. Dosis media efectiva (EC₅₀) para aislamientos de *Phytophthora infestans* frente a Metalaxil + Mancozeb.

Tabla 4. Prueba de Kruskal Wallis (Bonferroni corrected) para porcentaje de inhibición entre concentraciones del fungicida Cimoxanil 6% + Propineb 70%.

Dosis ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Control	1	10	100	1.000	10.000
Control	1					
1	0,05047	1				
10	0,00005	0,03549	1			
100	0	0	0,002	1		
1.000	0	0	0,002	1	1	
10.000	0	0	0,002	1	1	1

Tabla 5. Prueba de Kruskal Wallis (Bonferroni corrected) para tasa de esporulación entre concentraciones del fungicida Cimoxanil 6% + Propineb 70%.

Dosis ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Control	1	10	100	1.000	10.000
Control	1					
1	0,87894	1				
10	0,95142	0,83114	1			
100	0	0	0	1		
1.000	0	0	0	1	1	
10.000	0	0	0	1	1	1

Con respecto a los valores de EC₅₀ para este fungicida se encontró que los valores oscilaron entre 0,02853 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (aislamiento STI168) y 6,8116 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (aislamiento STP046) con un promedio de 1,575 (Fig. 1). Estos valores permitieron clasificar los aislamientos siguiendo la escala propuesta por Wang *et al.* (2002) encontrando que el 85% presentaron sensibilidad intermedia, el 15% sensibilidad y ninguno resistencia a este fungicida.

Fluopicolide 6% + Propineb 66,7%

Los resultados mostraron que la combinación fúngica reduce el crecimiento del patógeno respecto al control en un 28,4% en la dosis 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, algunos aislamientos presentaron valores bajos de inhibición con un 3,59% (aislamiento STP067), 5,06% (aislamiento STP056) y 6,91% (aislamiento STG075), lo que puede indicar que estos aislamientos pueden llegar a

presentar un comportamiento resistente a futuro. Al evaluar la dosis $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, los porcentajes de inhibición presentaron un promedio de 79,26%, mientras que las dosis mayores, entre 100 a $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$, producen una inhibición del 100% (Tab. 6).

La actividad antiesporulante se evidenció a partir de la dosis $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. El análisis estadístico mostró existencia de diferencias significativas entre las dosis 100, 1.000 y $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ frente al control ($P \leq 0,05$), en los cuales no se registró conteo de esporangios debido a que estas dosis resultaron letales al inóculo (Tab. 7).

DISCUSIÓN

Metalaxil 8% + Mancozeb 64%

Los resultados encontrados para la inhibición de crecimiento y esporulación corresponden a la característica del metalaxil como molécula altamente sistémica que afecta la síntesis de ARN ribosomal y la síntesis de las proteínas causando la reducción del crecimiento micelial y el desarrollo de esporangios del patógeno (Grunwald *et al.*, 2006).

Los resultados de la dosis media efectiva (EC_{50}) para este fungicida concuerdan con los reportados por Lagos (2002) al encontrar después de evaluar 63 aislamientos procedentes del Departamento de Nariño un 24% de reacción resistente. Dentro de las razones que expliquen la ausencia de poblaciones resistentes a metalaxil en este estudio, sean los cambios presentados en el ingrediente activo, ya que desde el año 2002 se ha distribuido en el mercado variantes dos veces más efectiva que el genérico conocido como Metalaxil – M. De igual manera, el uso intensivo de esta molécula para el control del tizón tardío en la zonas productoras de papa se ha visto reducida en virtud a la aparición de productos comerciales compuestos por nuevas mezclas que contienen fungicidas de tipo preventivo y curativo como Cimoxanil, Dimetomorf, Propamocarb o Estrobulinas (Santana *et al.*, 2013) y que resultan eficientes en el control del patógeno generando una sustitución gradual del metalaxil. Lo que indica que en general, las zonas productoras de papa en el Departamento de Nariño no generan una fuerte presión de selección y que aún se puede considerar el uso de productos a base de Metalaxil en programas de manejo que controlen este patógeno.

Tabla 6. Prueba de Kruskal Wallis (Bonferroni corrected) para porcentaje de inhibición entre concentraciones del fungicida Fluopicolide 6% + Propineb 66,7%.

Dosis ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Control	1	10	100	1.000	10.000
Control	1					
1	0,05074	1				
10	0,0001	0,05249	1			
100	0	0	0,0001	1		
1.000	0	0	0,0001	1	1	
10.000	0	0	0,0001	1	1	1

Tabla 7. Prueba de Kruskal Wallis (Bonferroni corrected) para tasa de esporulación entre concentraciones del fungicida Fluopicolide 6% + Propineb 66,7%.

Dosis ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Control	1	10	100	1.000	10.000
Control	1					
1	0,65718	1				
10	0,11186	0,25176	1			
100	0	0	0	1		
1.000	0	0	0	1	1	
10.000	0	0	0	1	1	1

Los bajos niveles de sensibilidad del 20% de los aislamientos de *P. infestans* evaluados frente al fungicida compuesto por Metalaxil + Mancozeb encontrados

Tabla 8. Clasificación de aislamientos de *P. infestans* según los valores de dosis media efectiva (EC_{50}) del fungicida Metalaxil 8% + Mancozeb 64%.

Cepas	EC_{50}	Clasificación
STP046	12,21	Resistente
STA157	11,91	Resistente
STP041	11,39	Resistente
STP115	10,03	Resistente
STP025	8,62	Intermedio
STP067	8,38	Intermedio
SPT056	7,29	Intermedio
STG075	7,05	Intermedio
STG100	6,84	Intermedio
STP039	6,70	Intermedio
SPP031	6,63	Intermedio
STP062	5,46	Intermedio
STI003	4,95	Intermedio
STI006	4,44	Intermedio
STI155	4,41	Intermedio
STA083	3,65	Intermedio
STT162	3,45	Intermedio
STI168	3,42	Intermedio
STA078	3,38	Intermedio
STA084	3,26	Intermedio

en este estudio conducen a redoblar los esfuerzos por implementar estrategias anti-resistencia en el Departamento de Nariño, según recomendadas de FRAC (2018) para el manejo de estos fungicidas y descritas por García *et al.* (2008) en los siguientes aspectos: implementar prácticas culturales de control, utilizar mezclas que incluyan fungicidas de tipo fenilaminas con productos protectantes multisitio en proporciones superiores al 75% y limitar el uso curativo o erradicante de dichos fungicidas limitando el uso entre 2 a 4 aplicaciones por ciclo de cultivo en intervalos mínimos de 14 d.

Cimoxanil 6% + Propineb 70%

La eficiencia encontrada en la inhibición de producción de esporangios y crecimiento del patógeno, se deba a que este fungicida compuesto por Cimoxanil, un ingrediente activo que posee un modo de acción multisitio, incluye la inhibición de la síntesis de ADN, ARN, aminoácidos y lípidos, además de afectar la respiración celular y la permeabilidad de la membrana celular inhibiendo el crecimiento de micelio del oomicete durante el periodo de incubación (Escudero, 2005).

Con respecto a los valores de EC_{50} se encontró que los valores oscilaron entre $0.02853 \mu\text{g mL}^{-1}$ (aislamiento STI168) y $6,8116 \mu\text{g mL}^{-1}$ (aislamiento STP046), con un promedio de 1,575 (Fig. 2). Estos valores permitieron clasificar los aislamientos siguiendo la escala propuesta por Wang *et al.* (2002) encontrando que el 85% presentaron sensibilidad intermedia, el 15% sensibilidad y ninguno de los aislamientos mostró resistencia.

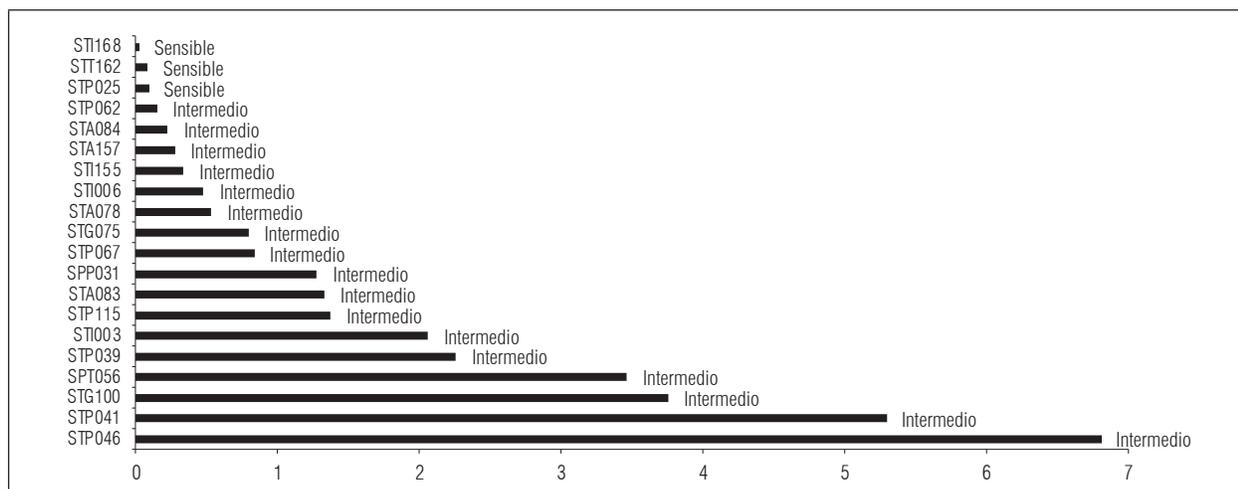


Figura 2. Dosis media efectiva (EC_{50}) para aislamientos de *Phytophthora infestans* frente a Cimoxanil + Propineb.

Al comparar los valores encontrados de EC_{50} con otros estudios realizados en el país, se encuentra que es frecuente este comportamiento de sensibilidad en aislamientos de *P. infestans* frente a Cimoxanil. Estudios realizados por Lagos (2002) mostraron que de 64 aislamientos de *P. infestans* evaluados y procedentes de Nariño, el 83% resultó sensible al ingrediente activo Cimoxanil y ninguno alcanzó el nivel de clasificación de resistente. De igual forma, Ochoa (2004) al evaluar 50 aislamientos obtenidos de diferentes regiones de Colombia, encontró que ninguno tuvo la capacidad de crecer en medios de cultivos suplementados con una concentración del ingrediente activo Cimoxanil al $0,8 \mu\text{g mL}^{-1}$, estos resultados demuestran que en las poblaciones evaluadas no se reportó aislamientos resistentes a la molécula. En cuanto a evaluaciones con el producto comercial García *et al.* (2008) reporta que para poblaciones de *P. infestans* aisladas de los departamentos de Antioquia, Boyacá y Cundinamarca frente a Curzate M-8 (DuPont™), se observan altos niveles de sensibilidad con valores promedios de EC_{50} de $0,20 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Tabla 9. Clasificación de aislamientos de *P. infestans* según los valores de dosis media efectiva (EC_{50}) del fungicida Cimoxanil 6% + Propineb 70%.

Aislamiento	EC_{50}	Clasificación
STP046	6.81167519	Intermedio
STP041	5.29215813	Intermedio
STG100	3.75804642	Intermedio
SPT056	3.46753449	Intermedio
STP039	2.26203998	Intermedio
STI003	2.06494207	Intermedio
STP115	1.37711758	Intermedio
STA083	1.33328641	Intermedio
SPP031	1.28169424	Intermedio
STP067	0.83474941	Intermedio
STG075	0.79677689	Intermedio
STA078	0.53733513	Intermedio
STI006	0.48214208	Intermedio
STI155	0.33825317	Intermedio
STA157	0.27725433	Intermedio
STA084	0.23039431	Intermedio
STP062	0.15117051	Intermedio
STP025	0.09758411	Sensible
STT162	0.09145114	Sensible
STI168	0.02853526	Sensible

Los resultados encontrados permiten indicar la ausencia de poblaciones del patógeno resistente a Cimoxanil en las zonas productoras de papa en el Departamento de Nariño, indicando que la presión de selección no es muy fuerte y que el uso de fungicidas a base de Cimoxanil aún es un control eficiente de la enfermedad. Esto se debe principalmente a que la molécula ya no es utilizada de manera intensiva por la aparición de nuevas moléculas preventivas y curativas para el control de *P. infestans*, lo que facilita realizar rotaciones de ingredientes activos entre aplicaciones.

A pesar que Cimoxanil es calificado por la FRAC (2018) con un nivel de riesgo bajo, el hecho de encontrar aislamientos de *P. infestans* con valores de EC_{50} superiores hasta cinco veces con respecto al promedio encontrado en el resto de la población, es un indicativo de la necesidad de continuar con el monitoreo y especialmente de establecer medidas que eviten la aparición de aislamientos resistentes al producto, reduciendo la utilización de productos cuyo ingrediente activo sistémico sea Cimoxanil como un producto erradicante y alternando su aplicación con otros fungicidas sistémicos que presenten diferentes ingredientes activos y modos de acción (Gullino *et al.*, 1997).

Fluopicolide 6% + Propineb 66,7%

La inhibición del crecimiento del patógeno se debe a que el fungicida interrumpe la división celular y la mitosis actuando sobre una proteína conocida como espectrina, la cual desempeña un papel vital en la estabilidad del citoesqueleto del patógeno, además induce lisis del micelio (Toquin *et al.*, 2007; Briggs *et al.*, 2006; FRAC, 2018). Por otra parte, la actividad antiesporulante se lleva a cabo primero con la detención, seguido del hinchamiento y ruptura de las estructuras reproductivas (esporangio y zoosporas) después de un minuto de ser tratados con el fungicida (Toquin *et al.*, 2007).

Los resultados de esta investigación difieren a los obtenidos por Saville *et al.* (2015) reportan una EC_{50} promedio de *P. infestans* frente a el ingrediente activo Fluopicolide (99.1 %) de $0.47 \mu\text{g mL}^{-1}$. Por otro lado, Keinath y Kousik (2011) en su evaluación de sensibilidad de aislamientos de *P. infestans* frente a Fluopicolide reportan valores de EC_{50} valores promedio de $0,22 \mu\text{g mL}^{-1}$. Es importante destacar que los resultados de estos trabajos difieren con los reportados en esta investigación debido a que las metodologías de evaluación utilizadas y la fuente de la molécula química

empleada fueron diferentes, pues en dichos trabajos se utilizó el ingrediente activo en grado técnico con una concentración del 99,1%, mientras que en este estudio la fuente correspondió a una formulación comercial, en la que el ingrediente activo Fluopicolide se encuentra al 6% además de estar acompañado por el fungicida protectante Propineb al 66,7%.

Tabla 10. Clasificación de aislamientos de *P. infestans* según los valores de dosis media efectiva (EC_{50}) del fungicida Fluopicolide 6% + Propineb 66,7%.

Aislamiento	EC_{50}
STP067	7,429858586
STA157	7,289353415
STI155	5,58909584
STG075	5,332464088
SPT056	5,009433128
STP046	4,787867895
STP115	3,995937667
STA083	3,124509027
STA078	2,502246318
STI006	1,41583901
STG100	1,15449664
STP025	1,037538963
STI003	0,814346463
SPP031	0,653942765
STP041	0,618132027
STP039	0,542802924
STP062	0,521781635
STI168	0,506779778
STA084	0,041677145
STT162	0,025894094

Hasta la fecha no se conocen reportes de resistencia de poblaciones *P. infestans* a Fluopicolide (FRAC, 2018), por tal razón es importante implementar programas anti resistencia como lo propone la FRAC, quienes recomiendan el uso de mezclas de tanque o mezclas comerciales que incluyan fungicidas del tipo fenilamidas con productos protectantes multi-sitio, además de establecer una línea base del nivel de sensibilidad de *P. infestans* a Fluopicolide, de modo que cambios a futuro encaminados a generar resistencia en las poblaciones de este patógeno puedan ser comparados con la línea base de sensibilidad establecida y de esa manera tener más control sobre el

uso de productos con este ingrediente activo (Keinath y Kousik, 2011). Es importante destacar que este estudio que establece las EC_{50} para este ingrediente activo (Fluopicolide) será útil a futuro como punto de referencia para investigaciones posteriores puesto que hasta el momento no se han realizado escalas para determinar la sensibilidad de *P. infestans* frente a este fungicida.

CONCLUSIONES

Los aislamientos de *Phytophthora infestans* evaluados presentaron diferentes niveles de sensibilidad al fungicida compuesto por Metalaxil + Mancozeb, encontrando aislamientos resistentes (20%) y medianamente sensibles (80%), debido al uso intensivo de fungicidas que contienen Metalaxil, lo cual ha llevado a que las poblaciones presenten o puedan llegar a presentar un proceso de adaptación a la molécula dando lugar a bajos porcentajes de inhibición y altos valores de EC_{50} .

La inhibición del crecimiento micelial y la esporulación de *P. infestans* se vio reducida para los tres fungicidas a partir de la dosis $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, la diferencia se encontró en los valores de EC_{50} en donde los fungicidas a base de Cimoxanil + Propineb y Fluopicolide + Propineb presentaron valores más bajos a los del fungicida a base de Metalaxil + Mancozeb, encontrando para Cimoxanil + Propineb aislamientos sensibles (15%) y medianamente sensibles (85%) y ningún aislamiento resistentes.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por la Gobernación de Nariño dentro del Sistema General de Regalías en la modalidad de Joven Investigador dentro del programa: "Fortalecimiento de Capacidades Regionales en Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación en el Departamento de Nariño", el cual se encontraba bajo la coordinación de la Fundación CEIBA y el Grupo de Investigación Genética y Evolución de Organismos Tropicales de la Universidad de Nariño.

Conflicto de intereses: el manuscrito fue preparado y revisado por los autores, quienes declaran no tener algún conflicto de interés que coloquen en riesgo la validez de los resultados aquí presentados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Briggs, G., D. Mansfield, B. Moloney, S. Gary y T. Wegmann. 2006. The discovery and chemistry of fluopicolide. A new estándar for Oomycetes disease control. *Pflanzenschutz Nachr.* 59, 141-152.
- DANE, Departamento Administrativo Nacional de Estadística de Colombia. 2018. Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA). Bogotá.
- Escudero, M. 2005. Secuencia parcial del gen citocromo b de *Phytophthora infestans* y su relación con la resistencia al fenamidone. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
- Erwin, D.C. y O.K. Ribeiro. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. APS Press, St. Paul, MN.
- FRAC, Fungicide Resistance Action Committee. 2018. FRAC code list: fungicides stored by mode of action. Bruselas, Bélgica.
- García, H., M. Marín, S. Jaramillo y J.M. Cotes. 2008. Sensibilidad de aislamientos colombianos de *Phytophthora infestans* a cuatro fungicidas sistémicos. *Agron. Colomb.* 26(1), 47-57.
- Granada, N., C. Naranjo, J. Castaño y R. Castro. 2002. Efecto de once extractos vegetales sobre el tizón tardío causado por *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary en papa (*Solanum phureja*). *Agronomía* 10(1-2), 2-20.
- Grunwald, N.J., A.K. Sturbaum, G. Romero, E. Garay, H. Loyza y W.E. Fry. 2006. Selection for fungicide resistance within a growing season in field populations of *Phytophthora infestans* at center of origin. *Phytopathology* 96, 1397-1403. Doi: 10.1094/PHYTO-96-1397
- Gullino, M.I., E. Mescalchin y M. Mezzalama. 1997. Sensitivity to cymoxanil in populations of *Plasmopara viticola* in northern Italy. *Plant Pathol.* 46, 726-736. Doi: 10.1046/j.1365-3059.1997.d01-68.x
- Jaramillo, S. 2004. Monografía sobre *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
- Keinath, A.P. y C.S. Kousik. 2011. Sensitivity of isolates of *Phytophthora capsici* from the Eastern United States to Fluopicolide. *Plant Dis.* 95(11), 1414-1419. Doi: 10.1094/PDIS-03-11-0242
- Lagos, L.E. 2002. Aislamiento y caracterización genética de las poblaciones de *Phytophthora infestans* en las zonas productoras de papa *Solanum tuberosum* en el departamento de Nariño. Tesis de maestría. Facultad de Ciencias, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
- Marín, M. y J. Mira. 1998. Caracterización de razas fisiológicas y tipo de apareamiento en aislamientos de *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, en diferentes pisos térmicos y hospedantes en el departamento de Antioquia. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
- Montes, G., H. Lozoya, G. Mora, S. Fernández y N. Grünwald. 2012. Rendimiento de papa en función de epidemia por tizón tardío (*Phytophthora infestans* Mont. de Bary). *Rev. Fitotec. Mex.* 35(1), 69-78.
- Nuninger, C., C. Steden, y T. Staub. 1995. The contribution of Metalaxyl-based fungicide mixtures to potato late blight control *Phytophthora infestans* 150. pp. 122-129. En: Dowley, L.J., E. Bannon, L.R. Cooke, T. Keane y E. O'Sullivan (eds.). European Association for Potato Research-Pathology Section Conference. Boole Press, Dublin, Irlanda.
- Ochoa, D. 2004. Determinación de la sensibilidad en los aislamientos colombianos de *Phytophthora infestans* hacia Cymoxanil, Dimetomorf y Clorotalonil. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.
- Pérez, W. y G. Forbes. 2008. Manual técnico del tizón tardío de la papa. Centro Internacional de la Papa, Lima.
- Santana, F.M., C.B. Gómez, C. Rombaldi, V.J. Bianchi y A. Reis. 2013. Characterization of *Phytophthora infestans* populations of southern Brazil in 2004 and 2005. *Phytoparasitica* 41, 557-568. Doi: 10.1007/s12600-013-0316-y
- Saville, A., K. Graham, N.J. Grunwald, K. Myers, W.E. Fry y J.B. Ristaino. 2015. Fungicide sensitivity of U.S. genotypes of *Phytophthora infestans* to six oomycete-targeted compounds. *Plant Dis.* 99(5), 659-666. Doi: 10.1094/PDIS-05-14-0452-RE
- Toquin, V., F. Barja, C. Sirven y R. Beffa. 2008. Fluopicolide, a new Anti-oomycetes fungicide with a new mode of action inducin perturbation of a spectrin-like protein. pp. 675-681. En: Kramer, W. y U. Schirmer (eds.). Modern crop protection compounds. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Alemania. Doi: 10.1002/9783527619580.ch19
- Wang, W.Q., Z.Q. Ma, X.F. Zhang, W.J. Zhang y M. David. 2002. Resistance to fungicides, mating types and fitness of *Phytophthora infestans*. *Acta Phytopathol. Sin.* 32(3), 278-283.