

Evaluación de sensibilidad a fungicidas de cuatro aislados de *Phytophthora infestans* mediante porcentaje de inhibición del crecimiento micelial y el desarrollo de síntomas en tubérculos de papa

Fungicide sensitivity assessment of four *Phytophthora infestans* isolates through mycelial growth inhibition percentage, and symptom development in potato tubers

Heidy Iliana Aguirre Arzola¹, Frida García Flores¹, Daniela de Jesús Cárdenas Guerrero¹, Ilse Alejandra Huerta Arredondo¹

¹ División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato.
ilse.huerta@ugto.mx

Resumen

Phytophthora infestans es el agente causal del tizón tardío, una enfermedad que causa grandes devastaciones en cultivos de papa y tomate a nivel mundial. En este estudio se evaluó la sensibilidad de cuatro aislados (Am1, Am3, Cvg y Ado) de *P. infestans* frente a tres fungicidas (metalaxil-M, clorotalonil, fluazinam) mediante pruebas *in vitro*; y de dos aislados (Cvg y Ado) frente a dos fungicidas (metalaxil-M y clorotalonil) en una prueba preliminar *in vivo*. Para el ensayo *in vitro* se utilizó medio de cultivo agar de chícharo suplementado con diferentes dosis de los fungicidas (0, 5 y 100 ppm) y se evaluó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial del oomiceto. Los resultados se analizaron mediante la prueba estadística ANOVA. En las pruebas *in vivo*, se observó el desarrollo síntomas de dos aislados en rodajas de tubérculo de papa tratadas con los fungicidas metalaxil-M y clorotalonil a dosis de 0, 5 y 100 ppm. Se analizaron los síntomas mediante una escala de severidad visual. En la evaluación *in vitro*, se encontró que con metalaxil-M se logró el mayor porcentaje de inhibición en 3 de los 4 aislados (Am1, Am3 y Cvg), incluso a baja concentración (5 ppm). Clorotalonil fue más efectivo en el aislado Ado. Similarmente, fluazinam inhibió con mayor eficacia al aislado Ado. Se advierte un posible desarrollo de resistencia del aislado Ado al metalaxil-M y de los aislados Am1, Am3 y Cvg al clorotalonil y fluazinam. En la prueba preliminar *in vivo*, los resultados no fueron muy consistentes. Por lo que, se sugiere continuar las evaluaciones aumentando repeticiones y asegurando la sanidad de los tubérculos. Concluimos que aislados provenientes del mismo cultivo (tomate) en la misma región (Guanajuato), presentan respuestas variables a los ingredientes activos evaluados.

Palabras clave: *Phytophthora infestans*; tizón tardío; metalaxil-M; clorotalonil; fluazinam; inhibición micelial; evaluación *in vitro*; evaluación *in vivo*.

Introducción

Phytophthora infestans, es un oomiceto causante de una de las enfermedades más agresivas y destructivas en cultivos de papa y tomate, conocida como tizón tardío (Cooke *et al.*, 2006).

Teniendo como sus hospedantes a la familia de las solanáceas, *P. infestans*, causa grandes daños a los cultivos de papa y tomate, destruyendo el follaje de la planta e infectando los tubérculos y frutos. Sin tratamiento, puede generar pérdidas de hasta el 100% sobre el cultivo en cuestión de pocos días. *P. infestans* ha sido responsable de grandes epidemias, como La Gran Hambruna en Irlanda en 1845, que causó la muerte de un millón de personas y la migración de otro millón (Fry *et al.*, 2015).

A pesar de haber sido investigado durante años, *P. infestans* continúa siendo objeto de estudio, pues aún representa un problema grave para la agricultura a nivel mundial ya que, pese a únicamente estar presente en su ciclo de vida asexual en la mayor parte del mundo, produce grandes cantidades de esporangios que se dispersan fácilmente, provocando la infección y devastación del cultivo de manera rápida y en grandes áreas (Fry, 2008). Una de las teorías señala a México como lugar de origen de este oomiceto, al haber sido el primer lugar donde se encontró su ciclo de reproducción sexual (Goss *et al.*, 2014). Por lo que, como centro de origen, en México existe una amplia diversidad genética de *P. infestans*.

La mayoría de los productores dependen de programas de aplicación de fungicidas para controlar el tizón tardío en papa y tomate. A pesar de que los fungicidas son las herramientas más comunes para el manejo de esta enfermedad, su uso representa ciertas desventajas, tales como: precio elevado, usos restringidos en la agricultura ecológica y altos riesgos potenciales hacia el ecosistema y la salud (Haverkort *et al.*, 2009). Desde hace muchos años, una problemática ha sido la resistencia de *P. infestans* frente a fungicidas sistémicos del grupo de las fenilamidas, como el metalaxil y su enantiómero mefenoxam. Estudios han documentado que, tras varios años de uso continuo, en diversas regiones, poblaciones del patógeno han adquirido resistencia a estos compuestos, perdiéndose su eficacia (Deahl *et al.*, 1993).

Dada la importancia de este fitopatógeno, su variabilidad en nuestro país y la facilidad para adquirir resistencia al control químico, el objetivo de este proyecto fue evaluar la sensibilidad de cuatro aislados de *Phytophthora infestans* a tres fungicidas de uso común (metalaxil-M, clorotalonil y fluazinam) a través de la medición del porcentaje de inhibición de crecimiento micelial y del desarrollo de síntomas en tubérculos de papa.

Material y métodos

Aislados de *Phytophthora infestans*

Para el estudio, se utilizaron cuatro aislados de *Phytophthora infestans*, obtenidos de campos comerciales de producción de tomate (*Solanum lycopersicum*) en el estado de Guanajuato. Los aislados fueron nombrados de la siguiente manera: Am1, Am3, Cvg y Ado.

Para la propagación y el mantenimiento de los aislados se emplearon dos tipos de medio de cultivo: agar de chícharo y agar de centeno. Los aislados se mantenían en una incubadora a una temperatura de 17°C y se resembraban periódicamente para mantenerlas viables.

Fungicidas

Se utilizaron tres productos comerciales etiquetados para el control de *P. infestans* y utilizados comúnmente en aplicaciones de campo contra tizón tardío. Los productos fueron: Ridomil Gold® 480 SL Metalaxil-M, Bravo® 720 SWS Clorotalonil y Shogun® 500FW Fluazinam. En adelante se mencionan únicamente los ingredientes activos que son: metalaxil-M, clorotalonil y fluazinam.

Ensayos

Se realizaron dos evaluaciones distintas para determinar la sensibilidad de los aislados a los fungicidas, una fue *in vitro*, donde se evaluaron los cuatro aislados y los tres fungicidas en medio de cultivo y la otra prueba fue *in vivo* en tubérculos de papa, donde se evaluaron los dos aislados que presentaron mayor esporulación y dos fungicidas, uno de acción preventiva (clorotalonil) y otro de acción curativa (metalaxil-M). A continuación, se describen los procedimientos realizados en cada caso.

Evaluación *in vitro*

Medio de cultivo y tratamientos. La evaluación se realizó en cajas de Petri con medio de cultivo conocido como agar de chícharo, preparado de acuerdo con los protocolos establecidos en Gamboa *et al.* (2019) y adicionados con los diferentes tratamientos de fungicidas. Los fungicidas se incorporaron en el medio de cultivo a diferentes concentraciones como se muestra en la tabla 1, y se evaluó su efecto inhibitorio sobre el crecimiento radial del micelio.

Tabla 1. Tratamientos evaluados *in vitro*.

Ingrediente Activo	Nombre Comercial	Concentraciones Evaluadas (ppm)	Aislados Evaluados	N° de Repeticiones
Metalaxil-M	Ridomil Gold®	0 (Testigo), 5, 100	Am 1, Am 3, Cvg, Ado	3
Clorotalonil	Bravo®	0 (Testigo), 5, 100	Am 1, Am 3, Cvg, Ado	3
Fluazinam	Shogun®	0 (Testigo), 5, 100	Am 1, Am 3, Cvg, Ado	3

Inoculación y evaluación. Se sembraron discos de micelio de 6mm de diámetro en el centro de cada caja Petri con la ayuda de un sacabocados, y se incubaron a 17°C. Como control, se utilizaron placas sin fungicida que fueron los testigos (0 ppm). El crecimiento radial fue medido en dos zonas perpendiculares con la ayuda de una regla milimétrica a los 3, 5 y 7 días después de la inoculación, y hasta que el testigo alcanzara el borde de la caja. Las mediciones perpendiculares del diámetro se promediaron entre sí para cada repetición y se expresaron en centímetros (cm). Finalmente se calculó el porcentaje de inhibición para cada repetición en relación con su testigo o control, utilizando la siguiente formula:

$$PI = \left(\frac{Dc - Dt}{Dc} \right) * 100$$

PI: porcentaje de inhibición de crecimiento micelial

Dc: diámetro promedio del crecimiento en el control o testigo

Dt: diámetro promedio del crecimiento en el tratamiento

Análisis. Con los datos de porcentaje de inhibición obtenidos el último día de medición, utilizando el programa de InfoStat ©, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de $p=0.05$. Se consideraron las variables independientes: aislado de *Phytophthora infestans*, tipo de fungicida y la dosis aplicada. La variable dependiente fue el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial.

Evaluación *in vivo*

Material vegetal. La prueba se realizó en material vegetal, específicamente tubérculos de papa relativamente sanos, sin signos visibles de algún tipo de daño mecánico ni enfermedad. Los tubérculos fueron lavados con agua y desinfectados superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 30 segundos y enjuagados con agua destilada estéril antes de su uso. Los tubérculos de papa desinfectados se cortaron en rodajas.

Aislados de *P. infestans*. Para la inoculación *in vivo* se seleccionaron los dos aislados de *Phytophthora infestans* identificadas previamente como las mayores productoras de esporangios o zoosporas y que causaron signos de infección con mayor rapidez. Estos aislados fueron Ado y Cvg.

Preparación del inóculo. Ambos aislados fueron cultivadas en medio de agar de chícharo durante 7 días a 17°C. Para la preparación del inóculo, se añadió agua destilada estéril a las placas con crecimiento micelial, se frotó suavemente la superficie para liberar estructuras reproductivas. En el caso de Ado, se recolectó una suspensión de esporangios. En el caso de Cvg, se recolectó una suspensión de zoosporas. Ambas suspensiones fueron cuantificadas usando una cámara de Neubauer (hemocitómetro) bajo microscopio óptico. Las concentraciones tuvieron un promedio estimado de 1.1×10^5 esporangios/ml en Ado y 4.5×10^5 zoosporas/ml en Cvg.

Fungicidas evaluados. Se evaluaron los ingredientes activos metalaxil-M y clorotalonil, a las siguientes concentraciones: 0ppm (testigo), 5ppm y 100ppm, como se muestra en la tabla 2.

Inoculación de tubérculos. Para los tratamientos, las rodajas de papa fueron sumergidas individualmente en cada una de las concentraciones correspondientes durante 5 segundos. Para el testigo, las rodajas se sumergieron en agua destilada estéril por el mismo tiempo. Una vez tratadas, las rodajas se colocaron en una cámara húmeda utilizando una caja de Petri, papel secante y agua destilada estéril. Se aplicaron dos gotas de 10µL de la suspensión correspondiente de esporangios (aislado Ado) o zoosporas (aislado Cvg) en cada una de las rodajas. Se incluyó un testigo absoluto que no fue tratado con fungicida, ni inoculado. Las rodajas de papa inoculadas bajo cada tratamiento, así como el testigo absoluto fueron incubadas en sus cámaras húmedas a 17°C durante 3 días.

Tabla 2. Tratamientos evaluados en la prueba in vivo

Ingrediente activo	Nombre comercial	Concentraciones evaluadas (ppm)	Aislados evaluados	Nº de repeticiones
Metalaxil-M	Ridomil Gold® 480 SL	0 (testigo), 5, 100	Ado, Cvg	3
Clorotalonil	Bravo® 720 SWS	0 (testigo), 5, 100	Ado, Cvg	3

Evaluación. La evaluación se realizó de forma cualitativa, utilizando una escala de severidad de 0-5 basada en una estimación visual que se describe en la tabla 3, en la que se consideró el desarrollo de síntomas y daño en cada rodaja. Cada repetición fue observada y evaluada individualmente para clasificarse de acuerdo con la escala. La elaboración y utilización de escalas basadas en estimación visual es una técnica común y válida en la ciencia de la fitopatología para evaluar la severidad de infecciones causadas por patógenos en tejido vegetal (Bock *et al.*, 2022).

Tabla 3. Escala de severidad utilizada para la evaluación de desarrollo de síntomas de *P. infestans* en rodajas de tubérculos de papa.

Nivel	Descripción del daño en el fruto
0	Tubérculo completamente sano. Sin necrosis, sin esporulación.
1	Necrosis ligera, $\leq 5\%$ de la superficie del tubérculo. Sin esporulación o muy escasa.
2	Necrosis, 6–15% del tubérculo afectado. Esporulación ligera localizada.
3	Necrosis 16–30% del tubérculo afectado. Esporulación visible en varias zonas. Presencia ligera de infecciones secundarias
4	Necrosis 31–60% del tubérculo afectado. Esporulación densa. Presencia moderada de infecciones secundarias
5	Necrosis extensa $>60\%$. Colapso del tejido. Esporulación abundante. Presencia abundante de infecciones secundarias

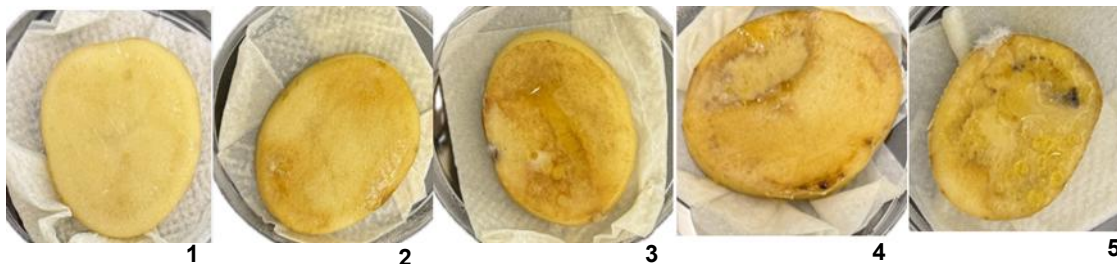


Figura 1. Imagen representativa de la escala de severidad elaborada y utilizada para evaluar severidad en los tubérculos de papa, ordenada de menor a mayor daño (0 – 5).

Resultados

Evaluación *in vitro*

Los resultados del porcentaje de inhibición del crecimiento radial micelial se describen a continuación para cada uno de los fungicidas. En todos los casos, el porcentaje de inhibición del testigo es cero pues sirvió como referencia del crecimiento total que debió alcanzar el aislado.

Metalaxil-M. Los rangos de inhibición de este producto fueron de 66 a 94%, mostrando diferentes respuestas en cada aislado, y siendo Ado en donde se inhibió el crecimiento en menor medida (66 y 69%). Los aislados Am1 y Ado no mostraron diferencias significativas ($p>0.05$) entre ambas dosis (5 y 100 ppm). En el caso de Am3 si se encontró diferencias significativas en las dos dosis ($p<0.05$), siendo 5 ppm el tratamiento con mayor porcentaje de inhibición (94.94%), mientras que 100 ppm inhibió el crecimiento en un 91.56%. De igual forma el aislado Cvg tuvo diferencias significativas ($p<0.05$) en los tratamientos, representando la dosis de 5 ppm la mejor opción con 89.66%, mientras que la dosis 100 ppm inhibió un 87.55%. En la figura 3 se muestra un ejemplo del crecimiento de cada uno de los aislados en las placas de Petri bajo cada concentración.

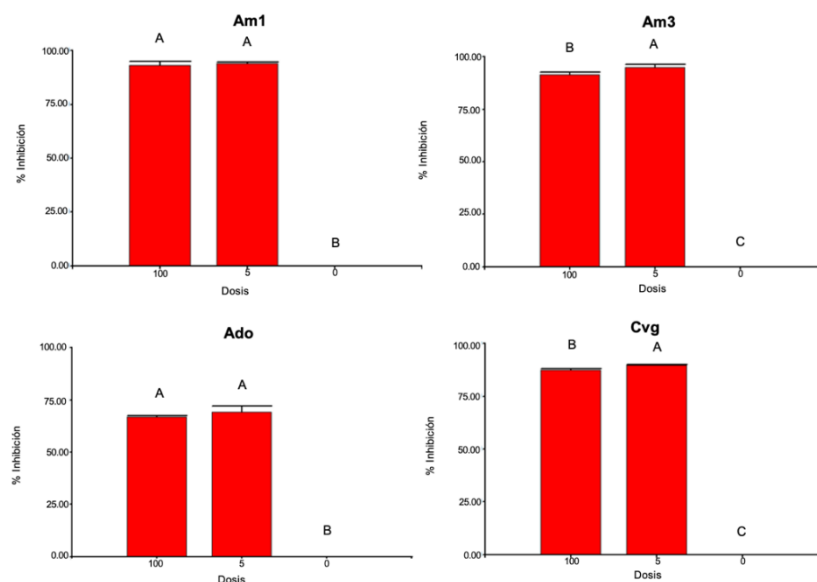


Figura 2. Porcentaje de inhibición de *P. infestans* con diferentes dosis de metalaxil-M en el aislado Am1, Am3, Ado y Cvg.

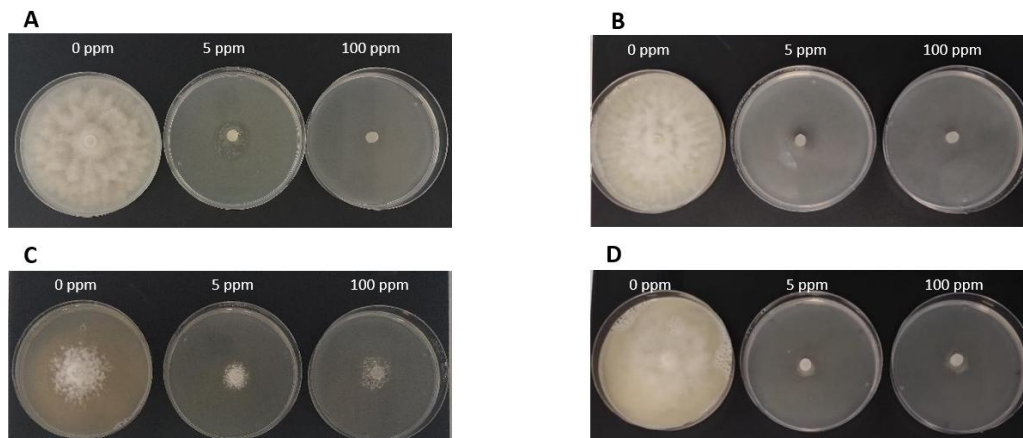


Figura 3. Desarrollo de micelio de los aislados Am1 (A), Am3 (B), Ado (C) y Cvg (D) cultivadas en medio de chícharo a diferentes dosis de metalaxil-M.

Clorotalonil. En el caso de Am1 y Am3 el porcentaje de inhibición fue inferior al 50% en ambas concentraciones, mostrando además diferencias significativas entre éstas. El aislado Am1 presentó una inhibición de 20.46% en 100 ppm y 10.34% en 5 ppm. En el aislado Am3 fue de 48.10% en 100 ppm y 6.75% en 5 ppm. También se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones en el aislado Cvg, cuya inhibición fue de 65.19% (100 ppm) y 23.63% (5 ppm). El aislado Ado fue el único bajo el tratamiento de clorotalonil en el cual, las dos dosis no fueron diferentes significativamente ($p<0.05$). Adicionalmente, el porcentaje de inhibición fue superior que los demás aislados. En 100 ppm inhibió 100% y 5 ppm, 86.79%

(Figuras 4 y 5). Como se observa, la concentración de 100 ppm mostró una mayor inhibición del crecimiento de *Phytophthora infestans* en todos los aislados, siendo el aislado Ado el que presentó la mayor sensibilidad ante clorotalonil.

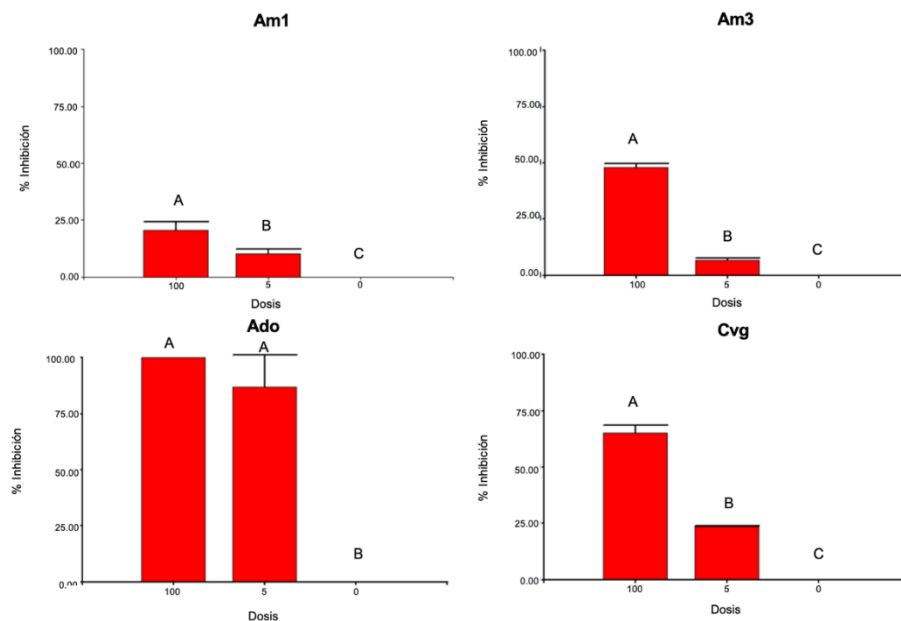


Figura 4. Porcentaje de inhibición de *P. infestans* con diferentes dosis de clorotalonil en el aislado Am1, Am3, Ado y Cvg.

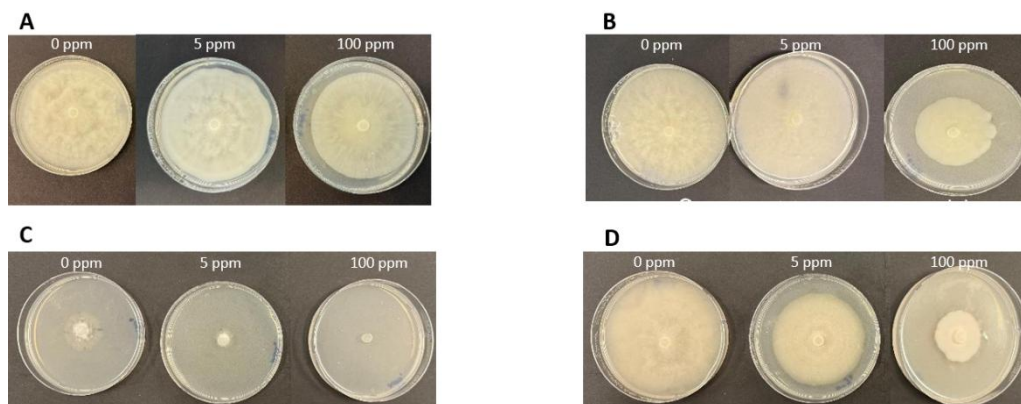


Figura 5. Desarrollo de micelio de los aislados Am1 (A), Am3 (B), Ado (C) y Cvg (D) cultivadas en medio de chicharo a diferentes dosis de clorotalonil.

Fluazinam. Los aislados Am1, Am3 y Cvg mostraron respuestas consistentes con un porcentaje de inhibición menor al 50% y con diferencias significativas entre sus dosis ($p < 0.05$). El aislado Am1 se inhibió en 45.57% en 100 ppm y 32.7% en 5 ppm. Am3 tuvo un porcentaje de inhibición de 44.09% en 100 ppm y 35.65% en 5 ppm. La inhibición en Cvg fue menor, con un 24.89% en 100 ppm y 17.51% a 5 ppm. En cambio, Ado tuvo porcentajes de inhibición mayores en 100 ppm (83.7%) y 5 ppm (54.67%). Ambos resultados también con diferencias significativas ($p < 0.05$) (Figuras 6 y 7).

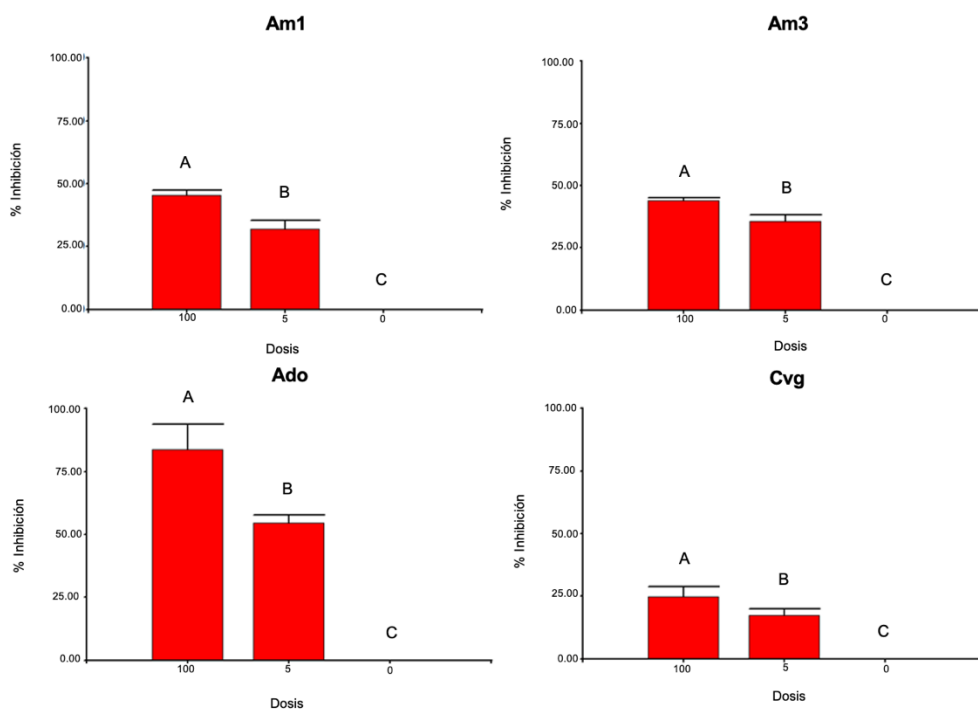


Figura 6. Porcentaje de inhibición de *P. infestans* con diferentes dosis de fluazinam en el aislado Am1, Am3, Ado y Cvg.

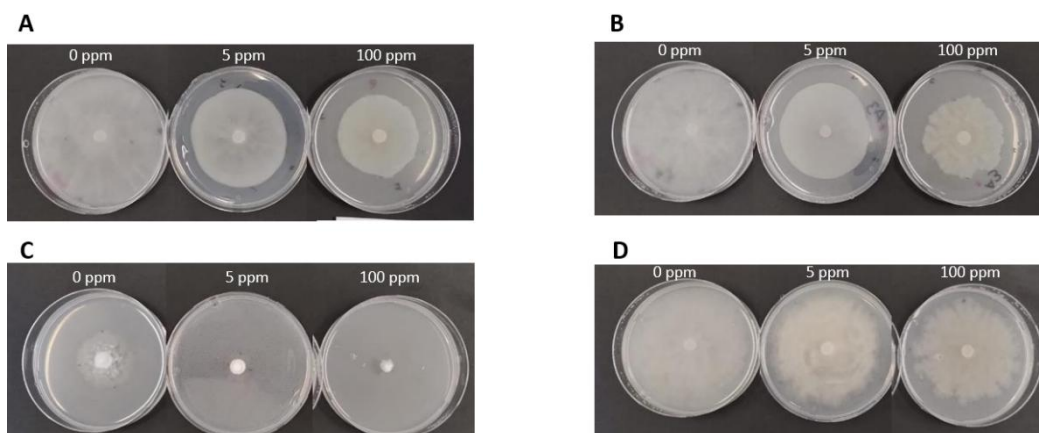


Figura 7. Desarrollo de micelio de los aislados Am1 (A), Am3 (B), Ado (C) y Cvg (D) cultivadas en medio de chícharo a diferentes dosis de fluazinam.

Evaluación *in vivo*

Los resultados del ensayo *in vivo* se expresaron mediante una escala de estimación visual de severidad con niveles de 0 a 5. Los resultados entre repeticiones fueron muy variables como se muestra en la Figura 8. El testigo absoluto obtuvo un nivel de severidad esperado de 0 en sus tres repeticiones, lo cual indica que las rodajas de papa que no fueron tratadas ni infectadas, no presentaron daño alguno.

Metalaxil-M. En el aislado Cvg la dosis de 100 ppm fue la más efectiva, mostrando una media menor en la escala de severidad, mientras que la dosis de 0 ppm presentó los mayores niveles de severidad. En el aislado Ado, ambas dosis (100 y 5 ppm) lograron reducir considerablemente la severidad en comparación con el testigo inoculado sin tratamiento fungicida (0 ppm), siendo la dosis de 5 ppm la que presentó menor severidad. (Figuras 8 y 9).

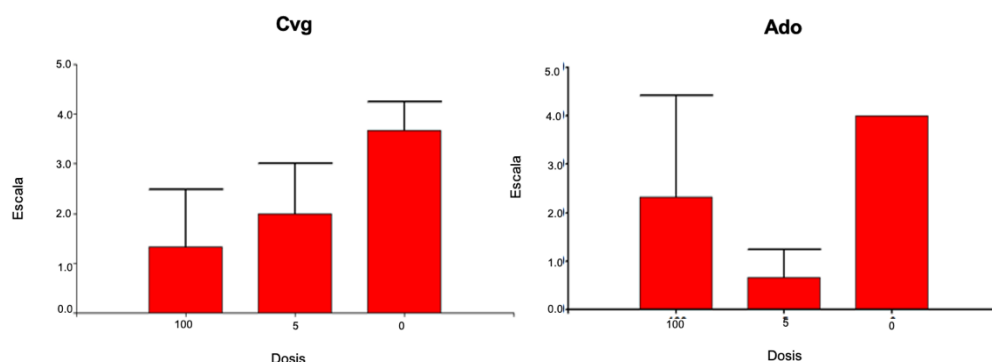


Figura 8. Escala de severidad del daño en tubérculos de papa causado por *P. infestans* en los aislados Ado y Cvg, bajo dos dosis de metalaxil-M.

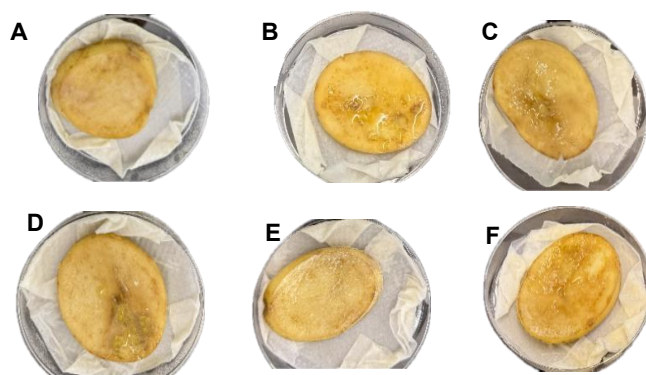


Figura 9. Tubérculos de papa infectados y tratados con metalaxil-M en dos concentraciones (100 ppm y 5 ppm), en dos aislados de *Phytophthora infestans*: Cvg (A-C) y Ado (D-F). Cvg a 100 ppm (A), 5 ppm (B) y sin tratamiento (0 ppm) (C); Ado a 100 ppm (D), 5 ppm (E) y sin tratamiento (0 ppm) (F).

Clorotalonil. En la evaluación del ingrediente activo clorotalonil se observaron diferencias. En el aislado Cvg la dosis de 5 ppm presentó la menor media de severidad, incluso inferior a la dosis de 100 ppm. En cambio, en el aislado de Ado, solo la dosis de 100 ppm logró reducir visiblemente la severidad, mientras que la dosis de 5 y 0 ppm resultaron en niveles más elevados en la escala de severidad (Figuras 10 y 11).

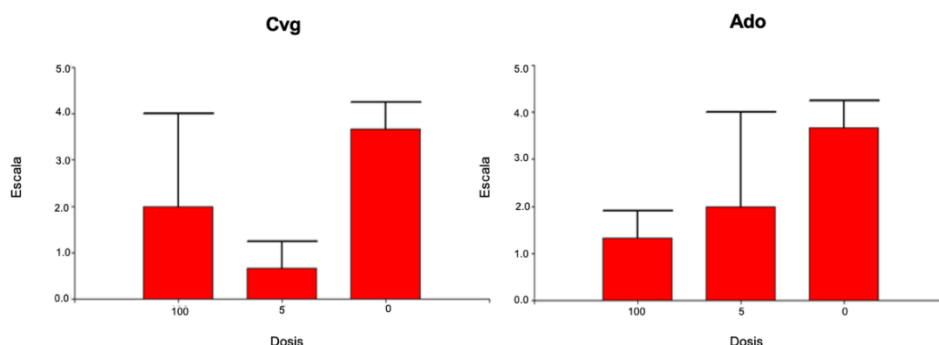


Figura 10. Escala de severidad del daño en tubérculos de papa causado por *P. infestans* en los aislados Ado y Cvg, bajo dos dosis de clorotalonil.

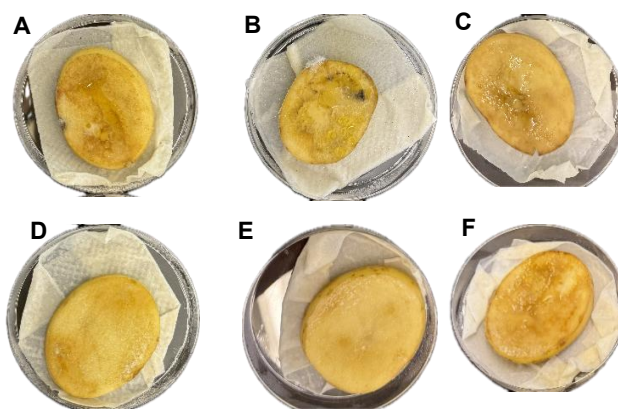


Figura 11. Tubérculos de papa infectados y tratados con clorotalonil en dos concentraciones (100 ppm y 5 ppm), en dos aislados de *Phytophthora infestans*: Cvg (A-C) y Ado (D-F). Cvg a 100 ppm (A), 5 ppm (B) y sin tratamiento (0 ppm) (C); Ado a 100 ppm (D), 5 ppm (E) y sin tratamiento (0 ppm) (F).

Conclusiones y Discusiones

En la evaluación *in vitro*, el ingrediente activo que tuvo un mayor efecto de inhibición en el crecimiento de todos los aislados fue metalaxil-M, al contrario de clorotalonil y fluazinam que mostraron porcentajes de inhibición menores sobre el crecimiento de la mayoría de los aislados de *P. infestans* (Am1, Am3, y Cvg), y con excepción del aislado Ado, quien presentó mayor inhibición ante el clorotalonil y fluazinam, que ante el metalaxil-M. Lo anterior sugiere una posible resistencia del aislado a este ingrediente activo. Cabe destacar que los testigos del aislado Ado presentaron siempre un menor crecimiento en relación con los testigos de los demás aislados, pero con una gran esporulación.

Se sabe que el metalaxil es un fungicida que ha sido ampliamente usado contra *P. infestans*, y que en la agricultura llega a ser una problemática por la creciente resistencia que se presenta. A pesar de esto, existen aislados susceptibles. Tal fue el caso en un estudio sobre la resistencia de metalaxil-M en Costa Rica, donde se evaluaron 118 aislados de *P. infestans*, donde 75 de ellos (64%) fueron resistentes al metalaxil-M y 43 (36%) fueron sensibles a este fungicida (Páez *et al.*, 2001). Por lo tanto, es esperado que el producto mostrara menor eficacia en al menos alguno de los aislados en este estudio. Se sugiere continuar monitoreando aislados de *P. infestans* para comparar su sensibilidad a metalaxil-M.

Otro resultado interesante con relación al metalaxil-M, fue que se presentó, de manera consistente, una mayor inhibición con 5 ppm en comparación de 100 ppm en todos los aislados. En algunos casos la diferencia fue estadísticamente significativa (Am3 y Cvg, $p < 0.05$) pero en general con diferencias porcentuales muy pequeñas. El hecho de que a bajas concentraciones el producto tenga un efecto mayor o igual que a altas concentraciones, nos indica que no hay necesidad de aplicar altas dosis del producto. Se sugiere investigar más a fondo este fenómeno, así como comparar con estudios en campo.

P. infestans, también ha desarrollado resistencia al clorotalonil al paso de los años. Los aislados evaluados en este proyecto, mostraron una variabilidad en la sensibilidad a este ingrediente activo, siendo Ado el más susceptible a 100 ppm (100% de inhibición). Similarmente, una evaluación en Brasil, con 50 aislados de *P. infestans*, con tratamientos de 0.0, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 25.0 y 100.0 ppm, mostró que los aislados tratados con 100 ppm fueron inhibidos al 100% (Reis *et al.*, 2005). Por otro lado, en Am1 y Am3 solo se inhibió el crecimiento en menos del 50%, incluso a la dosis alta de 100 ppm (Am1: 20.46% y Am3: 48.10%). Lo que sugiere una posible resistencia de estos aislados al clorotalonil. A diferencia de metalaxil-M, el clorotalonil sí mostró una respuesta directamente proporcional a la concentración, esto es: a mayor dosis, mayor inhibición del crecimiento en todos los aislados.

Finalmente, en el caso de fluazinam, Am1, Am3 y Cvg tuvieron una inhibición menor al 50%, incluso en las dosis altas de 100 ppm (Am1: 45.57%, Am3: 44.09% y Cvg: 24.89%). Ado fue el más susceptible con 83.7% de inhibición en la misma concentración. Hace más de una década, este fungicida era uno de los activos más eficientes mientras que el metalaxyl ya presentaba resistencia; esto se observó en un estudio realizado en Serbia, donde se evaluaron 12 aislados de *P. infestans*, con las concentraciones de 0.01, 0.1, 1.0 y 10.0 ppm, donde todos los aislados fueron susceptibles al activo fluazinam (Rekanović *et al.*, 2011). En su evaluación, 10 ppm fue la concentración más alta y con mayor eficacia, mientras que en nuestra evaluación el tratamiento de 100 ppm no tuvo ni el 50% de inhibición en 3 de los 4 aislados, sugiriendo así una posible resistencia de algunos aislados al fluazinam.

En la prueba *in vivo*, los testigos inoculados sin tratamiento fungicida y los testigos absolutos se comportaron de acuerdo con lo esperado (alto desarrollo de síntomas y sin síntomas, respectivamente). Sin embargo, los resultados de los tratamientos presentaron una alta variación. Se encontró un efecto positivo del metalaxil-M, pero inconsistente entre las dosis para cada aislado. En el clorotalonil, los resultados tampoco fueron muy consistentes. Se sugiere incrementar el número de repeticiones y asegurar la sanidad de los tubérculos para futuros ensayos.

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, se concluye que aislados provenientes del mismo cultivo (tomate) en la misma región (Guanajuato), presentan respuestas variables a los ingredientes activos evaluados (metalaxil-M, clorotalonil, fluazinam). Siendo metalaxil-M el más eficiente en 3 de los 4 aislados (Am1, Am3, Cvg). Es posible que los mismos 3 aislados presenten resistencia a clorotalonil y fluazinam y que el aislado Ado, presente resistencia a metalaxil-M. Se sugiere continuar monitoreando los aislados del estado de Guanajuato, para detectar posibles resistencias a fungicidas y alertar a los productores sobre el uso adecuado de estos productos.

Bibliografía/Referencias

- Bock, C. H., Chiang, K. S., & Del Ponte, E. M. (2022). Plant disease severity estimated visually: A century of research, best practices, and opportunities for improving methods and practices to maximize accuracy. *Tropical Plant Pathology*, 47(1), 25–42. <https://doi.org/10.1007/s40858-021-00439-z>
- Cooke, B. M., Jones, D. G., & Kaye, B. (Eds.). (2006). *The epidemiology of plant diseases* (2nd ed.). Springer.
- Deahl, K. L., Inglis, D. A., & DeMuth, S. P. (1993). Resistance to metalaxyl among isolates of *Phytophthora infestans* from northwestern Washington. *Plant Disease*, 77(10), 1027–1030. <https://doi.org/10.1094/PD-77-1027>
- Fry, W. E. (2008). *Phytophthora infestans*: The plant (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology*, 9(3), 385–402. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00465.x>
- Fry, W. E., Birch, P. R. J., Judelson, H. S., Grünwald, N. J., Danies, G., Everts, K. J., Genens, A. J., Gugino, B. K., Johnson, D. A., Johnson, S. B., McGrath, M. T., Myers, K. L., Ristaino, J. B., Roberts, P. D., Secor, G., & Smart, C. D. (2015). Five reasons to consider *Phytophthora infestans* a reemerging pathogen. *Phytopathology*, 105(7), 966–981. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-15-0005-FI>
- Gamboa, S., Pérez, W., Andrade-Piedra, J. L., & Forbes, G. (2019). Laboratory manual for *Phytophthora infestans* work at CIP (78 p.). International Potato Center.
- Goss, E. M., Tabima, J. F., Cooke, D. E., Restrepo, S., Fry, W. E., Forbes, G. A., Fieland, V. J., Cardenas, M., & Grünwald, N. J. (2014). The Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans* originated in central Mexico rather than the Andes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(24), 8791–8796. <https://doi.org/10.1073/pnas.1401884111>
- Haverkort, A. J., Struik, P. C., Visser, R. G. F., & Jacobsen, E. (2009). Applied biotechnology to combat late blight in potato caused by *Phytophthora infestans*. *Potato Research*, 52(3), 249–264. <https://doi.org/10.1007/s11540-009-9136-3>
- Páez, O., Gómez, L., Brenes, A., & Valverde, R. (2001). Resistencia de aislados de *Phytophthora infestans* al metalaxil en el cultivo de la papa en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 25(1), 33–44.
- Reis, A., Ribeiro, F. H. S., Maffia, L. A., & Mizubuti, E. S. G. (2005). Sensitivity of Brazilian isolates of *Phytophthora infestans* to commonly used fungicides in tomato and potato crops. *Plant Disease*, 89(12), 1279–1284. <https://doi.org/10.1094/PD-89-1279>
- Rekanović, E., Potočnik, I., Milišašević-Marčić, S., Stepanović, M., Todorović, B., & Mihajlović, M. (2011). Sensitivity of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary isolates to fluazinam, fosetyl-Al and propamocarb-hydrochloride. *Pesticidi i Fitomedicina*, 26(2), 111–116. <https://doi.org/10.2298/PIF1102111R>