



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS - ESPE DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

“Evaluación de la sensibilidad a fungicidas de poblaciones de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary aisladas de cultivos de papa (*Solanum tuberosum* L.), mediante ensayo en placa de discos de hojas”

Silva Vaca, Karen Michelle

Tutor: Gavilanes Quizhpi, Álvaro Petronio M.Sc.
Tutor externo: Tello Torres, Cristina Margarita Mgs.

Sangolquí, 02 marzo de 2023



Contenido

- Introducción
- Objetivos
- Hipótesis
- Materiales y Métodos
- Resultados y Discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones



Papa (*Solanum tuberosum* L.)

Introducción

Calidad nutricional
Amplia gama de agroecosistemas
Alta producción de materia seca y nutrientes

Cultivo de seguridad alimentaria

(Ortiz & Mares, 2017; Devaux et al., 2021)

Una de las variedades más consumidas en el país

Superchola

(CIP, 2017)

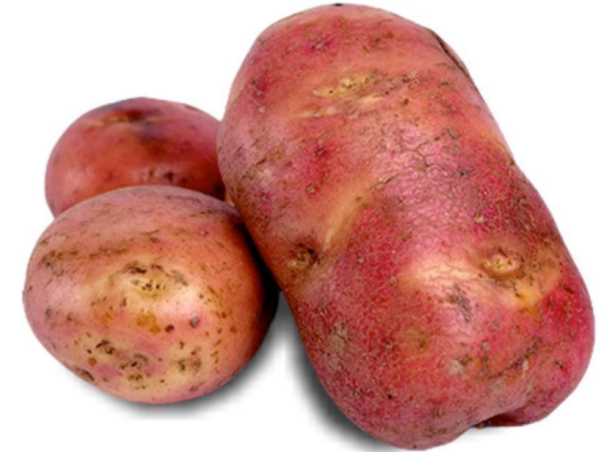


Phytophthora infestans

Puccinia pittieriana

Globodera pallida

Principales enfermedades de la papa:
Tizón tardío



P. infestans

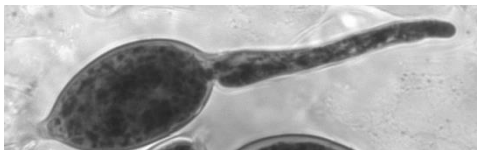
Modelo interacción patógeno - huésped
→ Fitopatología
→ Estudios moleculares

Phyto = planta
Phtora = destructor

Lesiones visibles en días

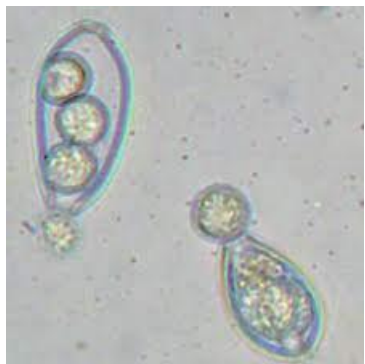
Condiciones óptimas
18 – 22 °C

Esporulación
20 - 25 °C
↑ Humedad



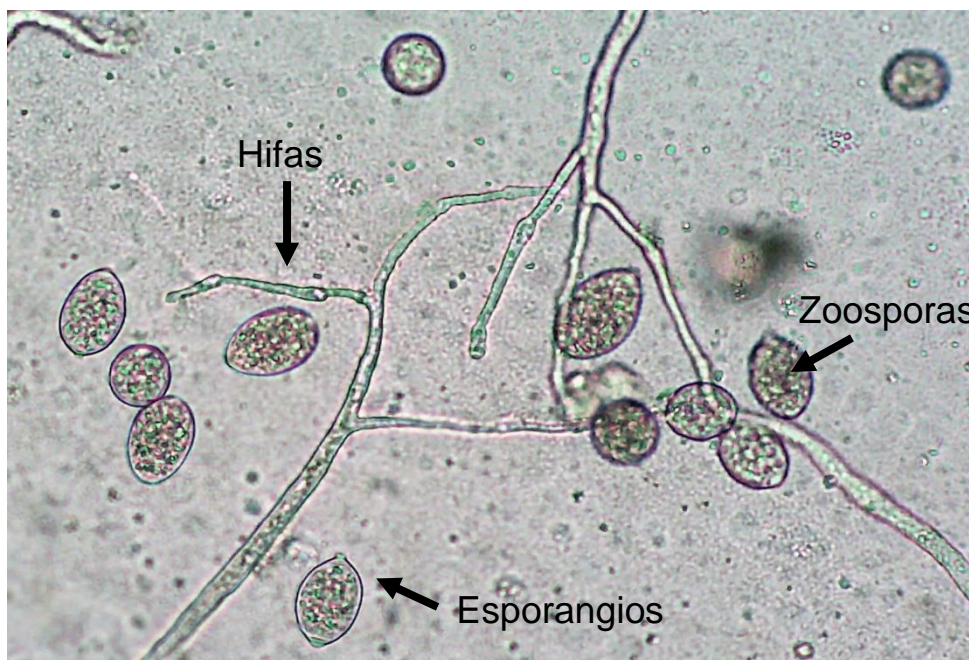
Tubo germinativo

Penetra al huésped



Zoosporas

Nadan, enquistan y germinan



P. infestans



Lesiones negruzcas

Envés de la hoja con esporulación

Destrucción de la planta

Disponibilidad de fungicidas eficaces → uso continuo
Economía, ambiente y salud → mejoras en la eficiencia del uso

Fungicidas de Contacto

Acción preventiva. Solo se usan como protectores.

Mandipropamid: Interfiere en la síntesis de la pared celular.

Mancozeb: Inhibe la germinación de esporas al interferir procesos bioquímicos en citoplasma.

Clorotalonil: Inhibe la respiración celular.

Fungicidas Sistémicos

Se translocan. Tejidos penetrados son tóxicos para el patógeno.

Dimetomorf: Inhibe la formación de la pared celular y provocando su lisis.

Propamocarb: Interfiere selectivamente con la biosíntesis de las membranas .

Cimoxanil: Inhibe el crecimiento del micelio

Metalaxil: Inhibe el crecimiento de micelio y la formación de esporas.

Objetivo general

Evaluar la sensibilidad a fungicidas de poblaciones de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary aisladas de cultivos de papa (*Solanum tuberosum* L.), mediante ensayo en placa de discos de hojas.

Objetivos específicos

- Obtener aislados de *P. infestans* de cultivos de papa infectados procedentes de las provincias de Pichincha, Tungurahua, Chimborazo y Cotopaxi.
- Determinar la sensibilidad *in vivo* de poblaciones de *P. infestans* a los ingredientes activos Dimetomorf, Propamocarb, Metalaxil, Cimoxanil, Mandipropamid, Mancozeb y Clorotalonil.
- Comparar la respuesta de sensibilidad entre las poblaciones del patógeno a los fungicidas.

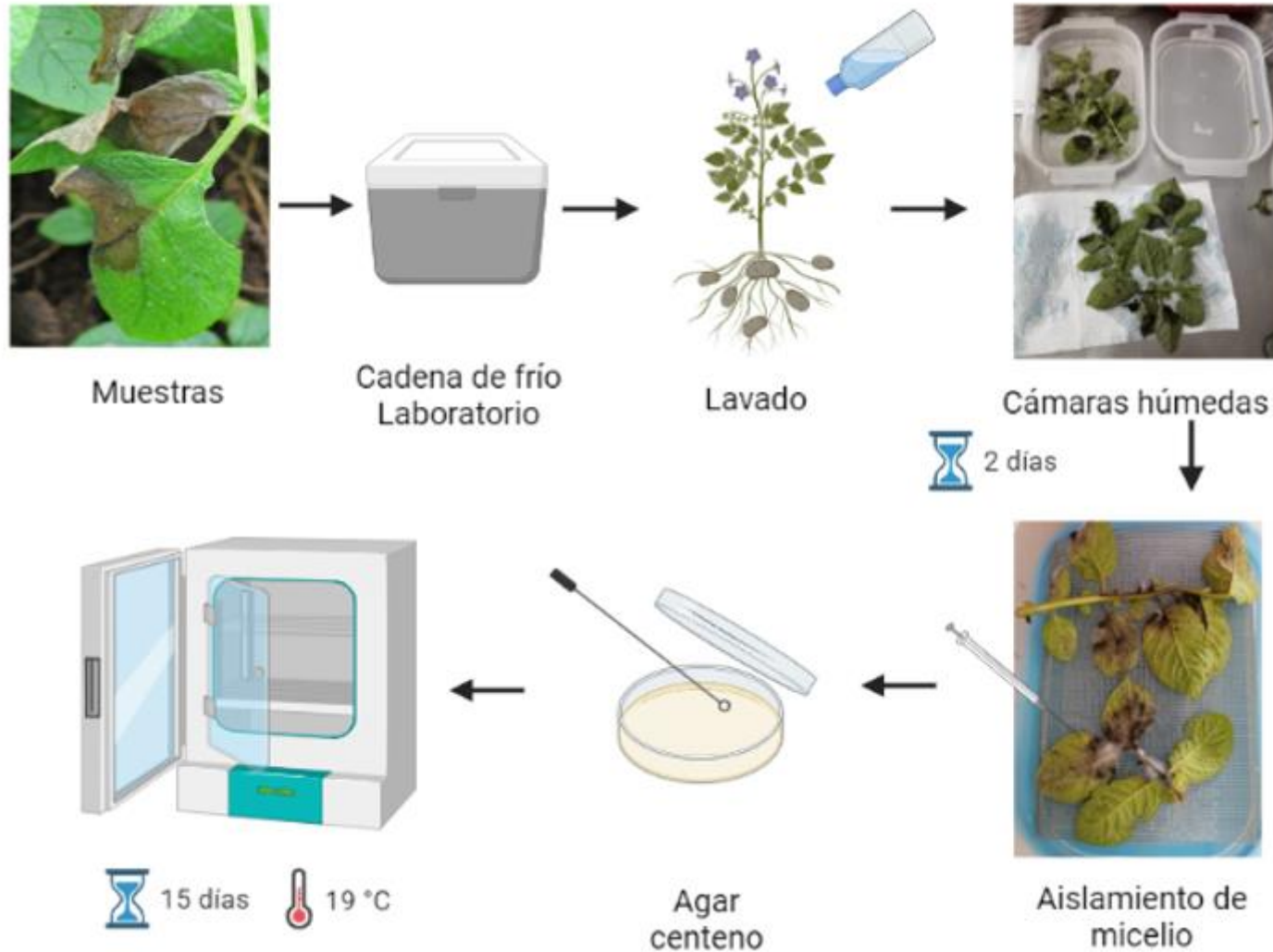


Hipótesis

La sensibilidad de los diferentes aislados de *P. infestans* *in vivo*, es variable estadísticamente en función de su procedencia, de los fungicidas utilizados y su dosis.



Recolección e incubación de material vegetal



Provincias

Pichincha
Cotopaxi
Tungurahua
Chimborazo



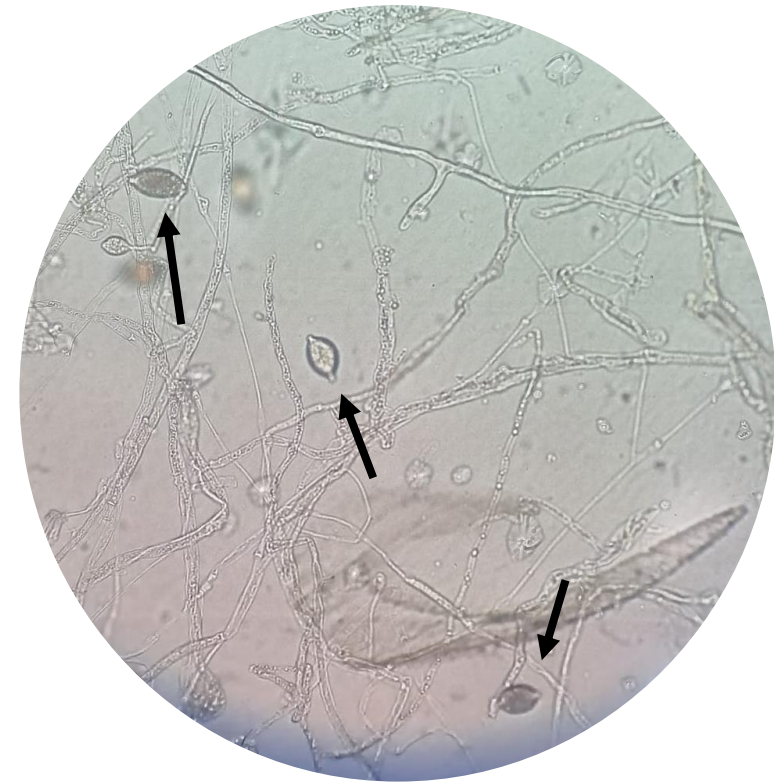
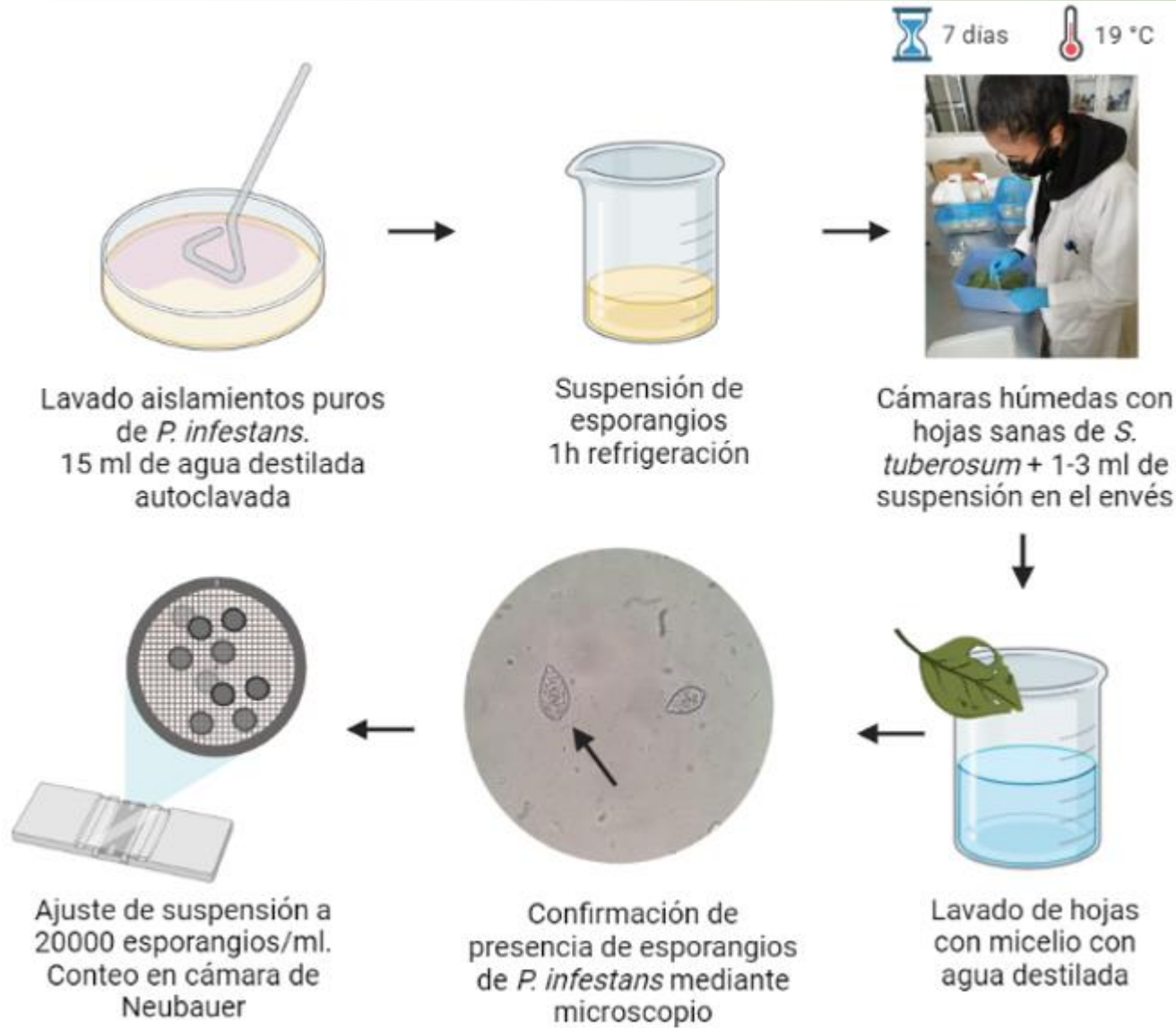
Aislamiento puro de *P. infestans*



Multiplicación en Agar centeno

Reactivación de aislamientos y ajuste de concentración de esporangios

Material es y métodos



Esporangios



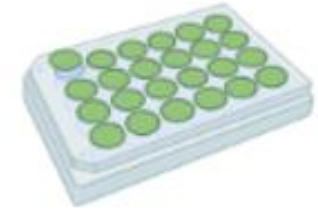
Ensayo en placa de discos de hojas



Dosis



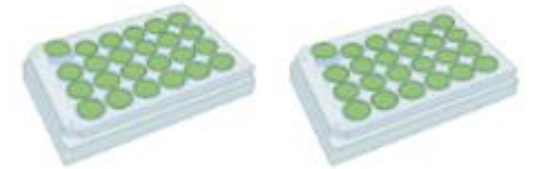
Dosis
comercial/alta



Dosis baja
(1/100 de [alta])

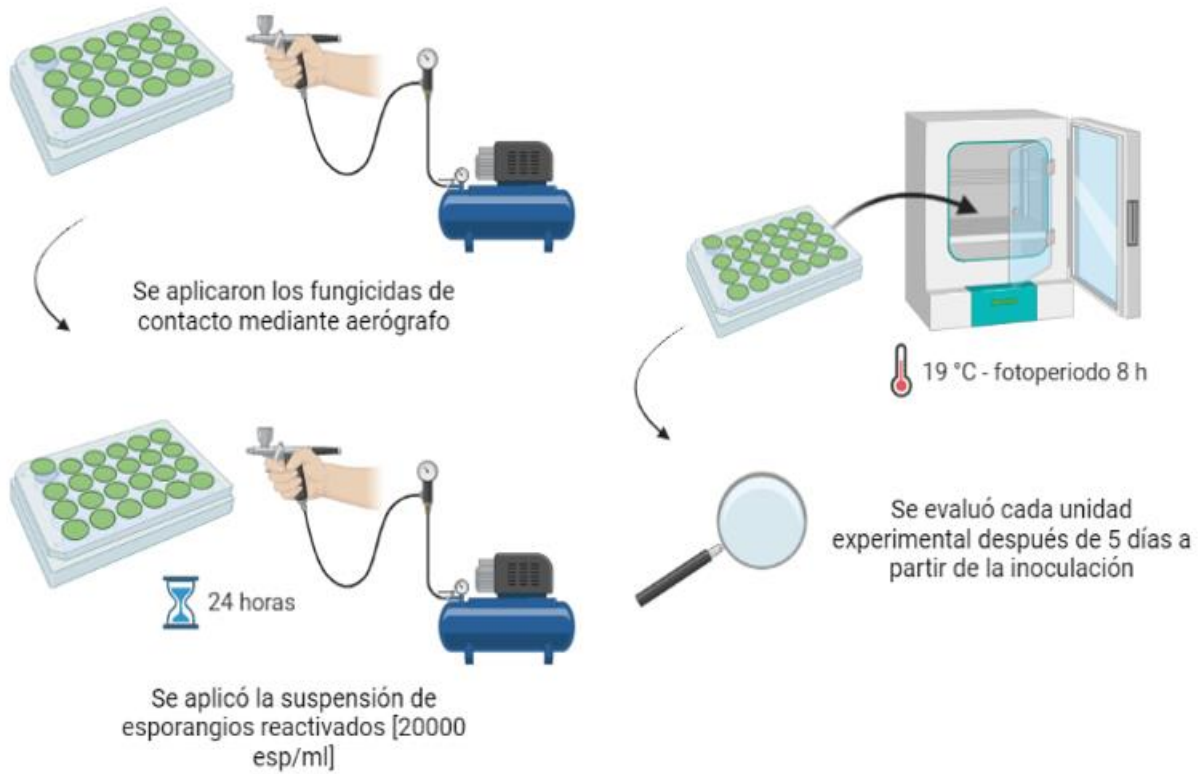


Dosis media
(1/10 de [alta])

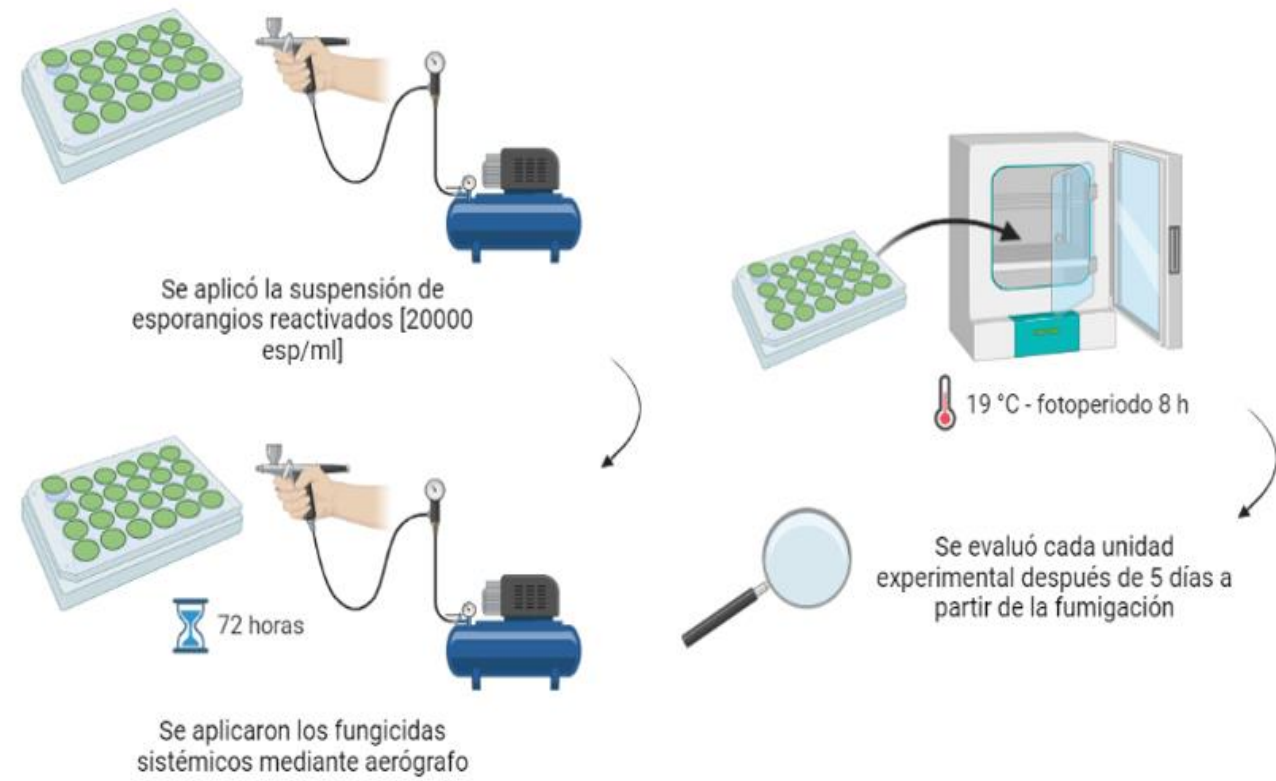


Testigos (agua
destilada - suspensión)

Fungicidas de contacto



Fungicidas sistémicos



Análisis estadístico

Diseño Experimental
DCA con Factorial 4 x 7 x 3

Tratamientos
84

Variables de respuesta
Incidencia
Severidad
Esporulación

ANOVA. Para variables incidencia de infección y severidad

Prueba de independencia. Esporulación con dosis comercial/alta

Porcentaje de incidencia de infección



Infección - 100

Sin infección - 0

Porcentaje de severidad de infección



Porcentaje individual de 1 a 100

Porcentaje de esporulación

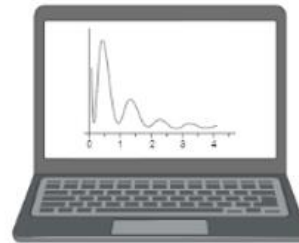


Sin esporulación - 0

Esporulación media - 50

Esporulación alta - 100

Concentración efectiva media (CE50)



- Regresión Logit
- Software estadístico Infostat

Determinación de sensibilidad/resistencia:
Escala de Shattock

Escala de Shattock

Nivel de sensibilidad	Crecimiento respecto al testigo absoluto
Sensible	Menor que 10%
Intermedio	Entre 10 y 60%
Resistente	Mayor que 60%

Georreferenciación de los aislamientos obtenidos de las cuatro provincias

Aislamiento	Provincia	Lugar	Coordenadas	
			Latitud	Longitud
P1	Pichincha	Cutuglagua	-0,369826	-78,555826
P2		Cutuglagua	-0,369818	-78,555857
P3		EESC	-0,369717	-78,555470
P4		EESC	-0,369660	-78,555373
P5		EESC	-0,366416	-78,474566
P6		Cuendina	-0,366418	-78,474564
P7		La Victoria	-0,366156	-78,474406
C1	Cotopaxi	Tanicuchí	-0,786390	-78,613451
C2		Tanicuchí	-0,788545	-78,613552
C3		Toacazo	-0,767544	-78,679278
C4		Toacazo	-0,768211	-78,679747
C5		Toacazo	-0,768210	-78,679748
C6		Toacazo	-0,768348	-78,679806
C7		Pujilí	-1,011432	-78,740714
C8		Pujilí	-1,011467	-78,740807
Ch1	Chimborazo	Tuntatacto	-1,527446	-78,721125
Ch2		Tuntatacto	-1,527634	-78,712413
Ch3		La Josefina	-1,563583	-78,720270
Ch4		La Josefina	-1,563193	-78,720385
Ch5		La Josefina	-1,564124	-78,725129
Ch6		San Andrés	-1,471256	-78,557943
Ch7		San Andrés	-1,472526	-78,160767
T1	Tungurahua	Nuevo Rumihuaico	-1,170420	-78,548993
T2		Nuevo Rumihuaico	-1,168510	-78,549207
T3		Cunchibamba	-1,121542	-78,570675
T4		Cunchibamba	-1,120405	-78,570910
T5		Chorrera	-1,141014	-78,581404
T6		Chorrera	-1,142520	-78,580137
T7		San Bartolomé	-1,134058	-78,601079
T8		San Bartolomé	-1,134846	-78,603685

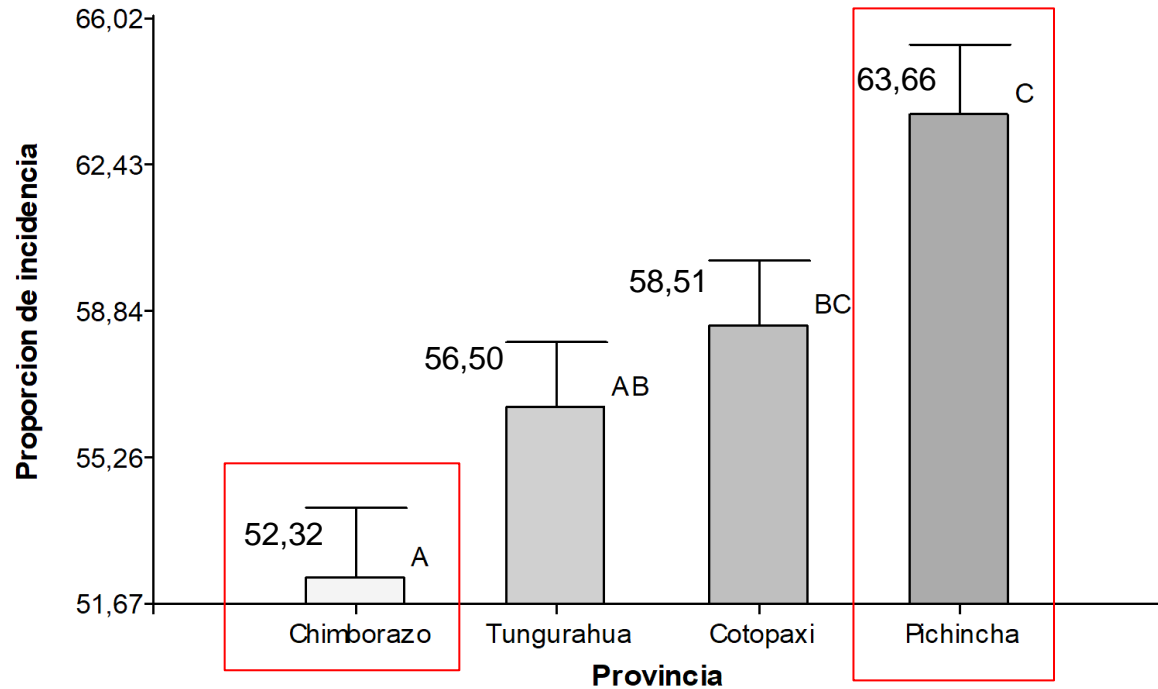
ANOVA factorial de las variables incidencia y severidad

Fuentes de variabilidad	GI	Incidencia	Severidad
		p	p
Provincia	3	<0,0001	<0,0001
Dosis	2	<0,0001	<0,0001
Fungicida	6	<0,0001	<0,0001
Provincia*Dosis	6	<0,0001	<0,0001
Provincia*Fungicida	18	0,0003	<0,0001
Dosis*Fungicida	12	0,6731	<0,0001
Provincia*Dosis*Fungicida	36	0,5907	<0,0001
Error	1932		
Total	2015		

$p < 0,05 \rightarrow$ la variable independiente tiene un efecto significativo sobre la variable dependiente

Provincia

Provincia vs Incidencia



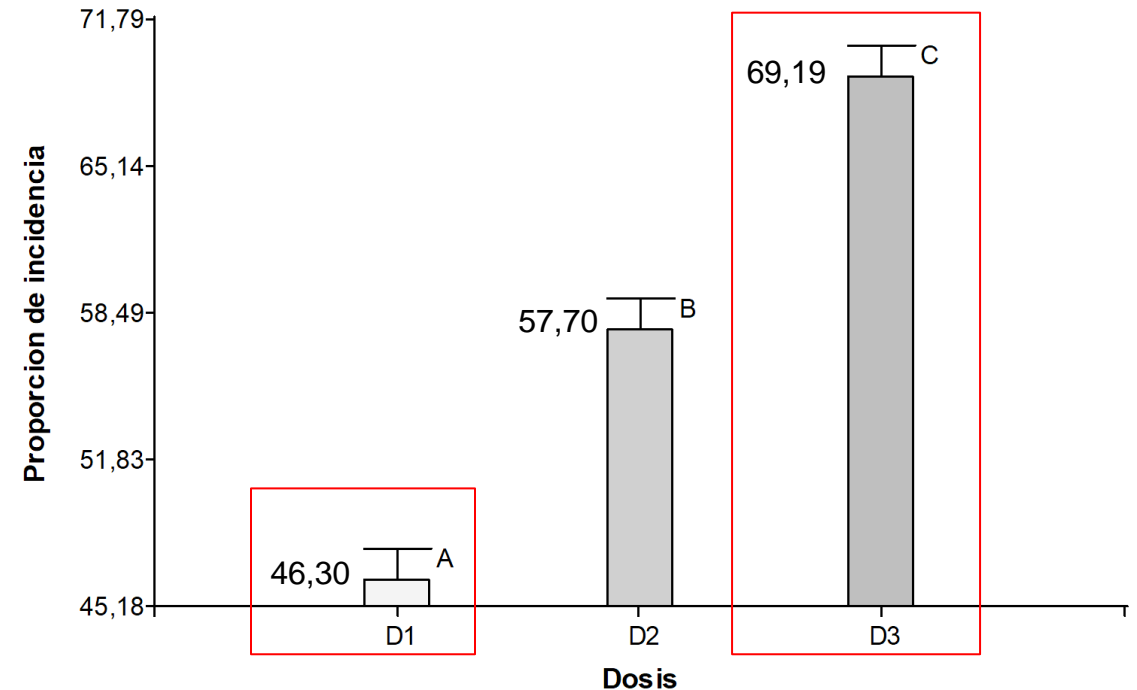
Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Variación significativa entre provincias

Origen geográfico de las muestras, diferencias en los linajes genéticos → incidencia

Dosis

Dosis vs Proporción de incidencia



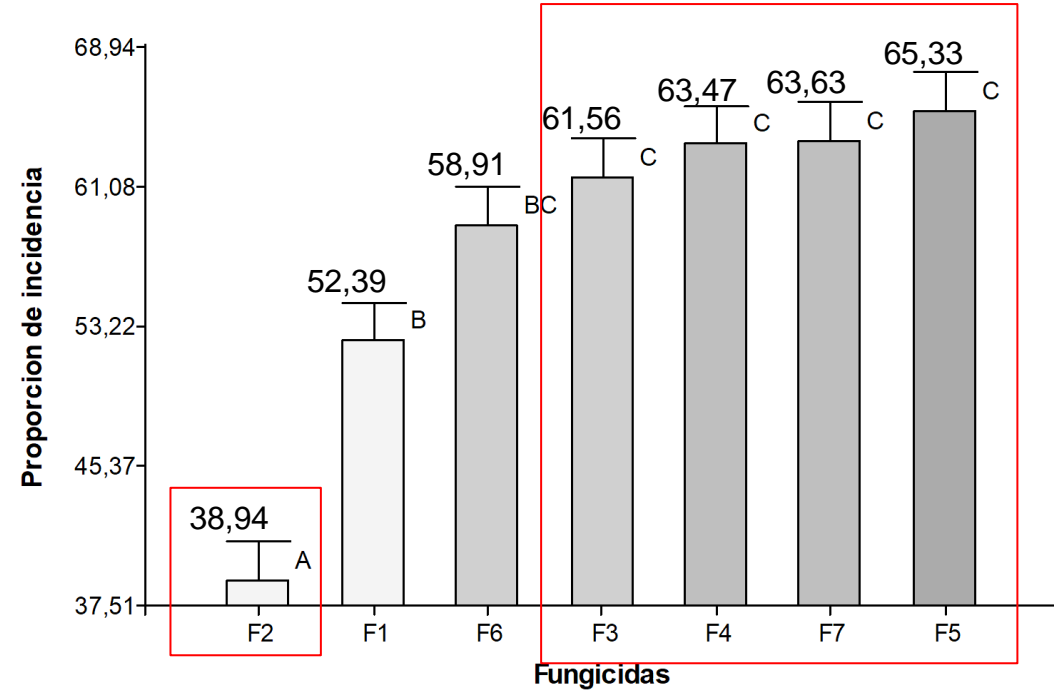
Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). D1: dosis alta o comercial, D2: dosis media, D3: dosis baja.

Variación significativa entre dosis

Aplicación de agroquímicos deben ser en función de las dosis recomendadas para más efectividad

Fungicida

Fungicida vs Proporción de incidencia

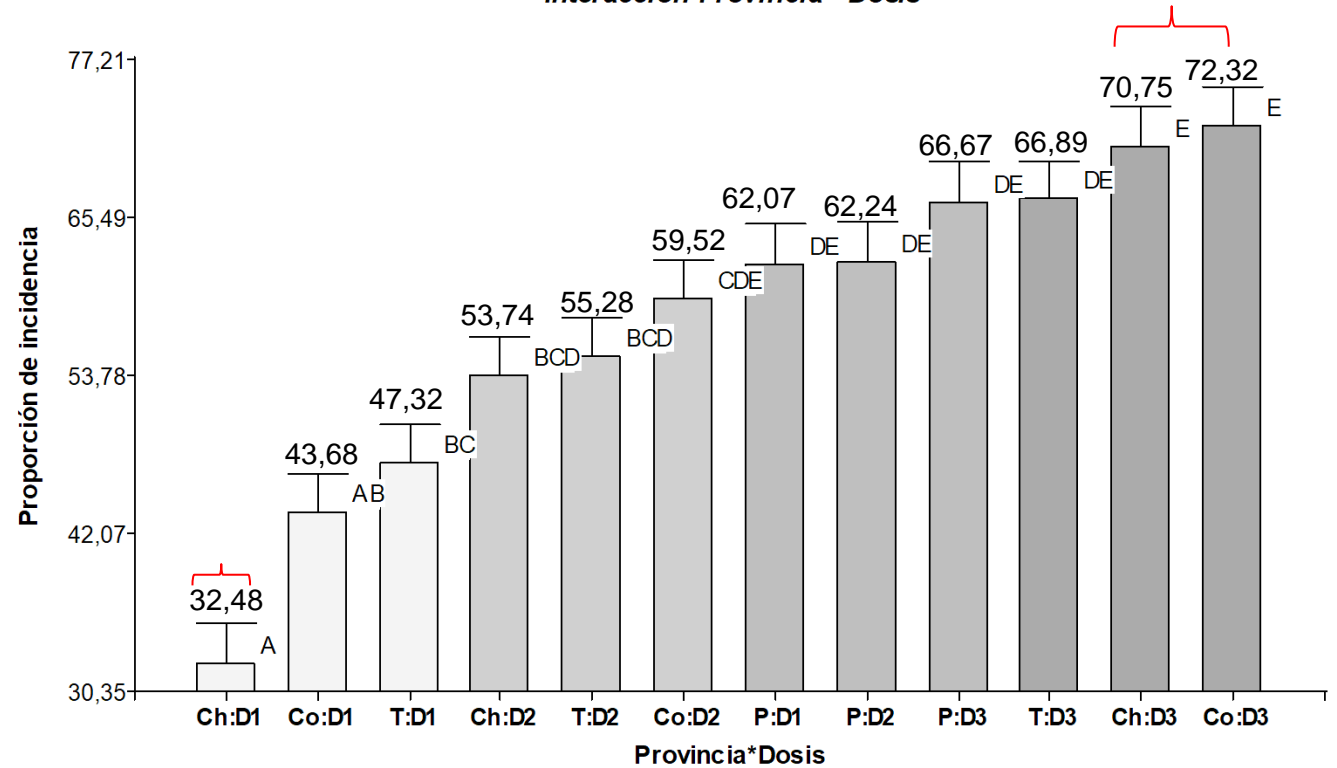


Mandipropamid (F1), Mancozeb (F2), Clorotalonil (F3), Dimetomorf (F4), Propamocarb (F5), Cimoxanil (F6), Metalaxil (F7)

Otros estudios: 47% y 58% Mancozeb y Propamocarb.
65% y 91% con Dimetomorf y Metalaxil.

Provincia - Dosis

Interacción Provincia - Dosis

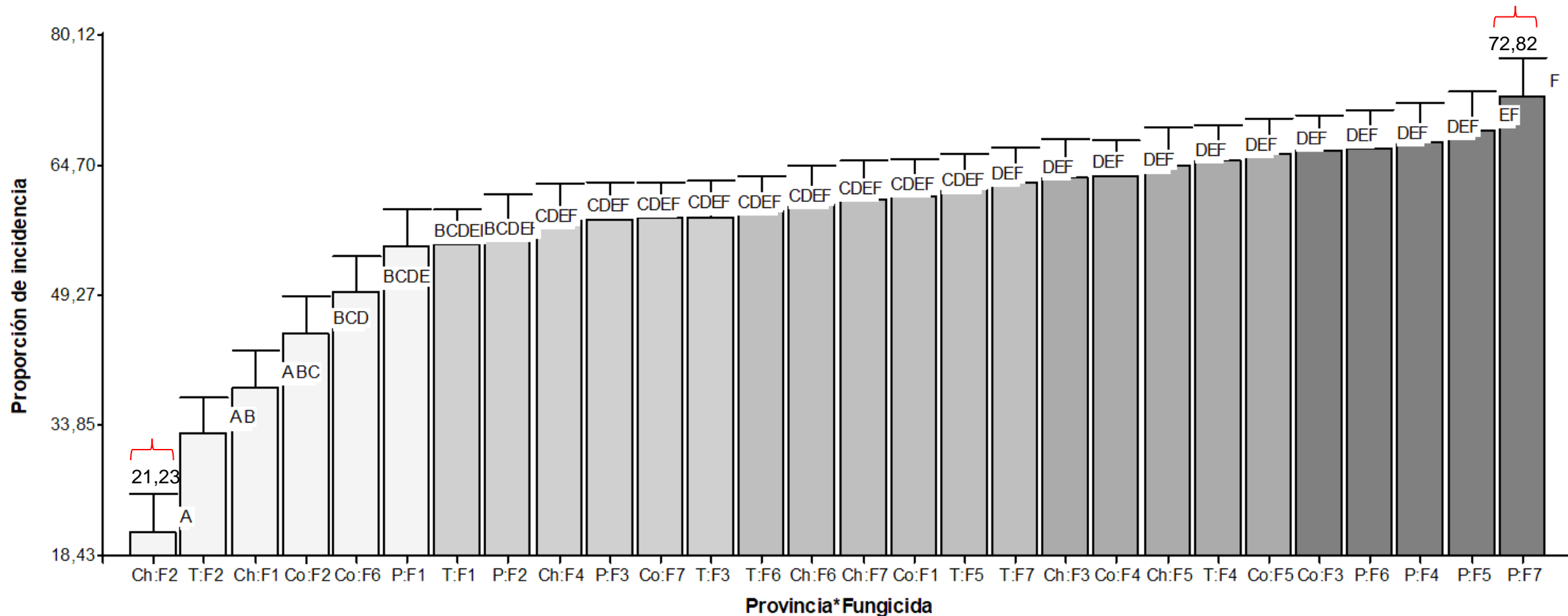


Diferencias debido a factores ambientales y culturales que condicionan al patógeno en su capacidad de infección y severidad.

Cambiar la dosis recomendada incide en la efectividad del fungicida y sensibilidad del patógeno

Provincia - Fungicida

Interacción Provincia - Fungicida

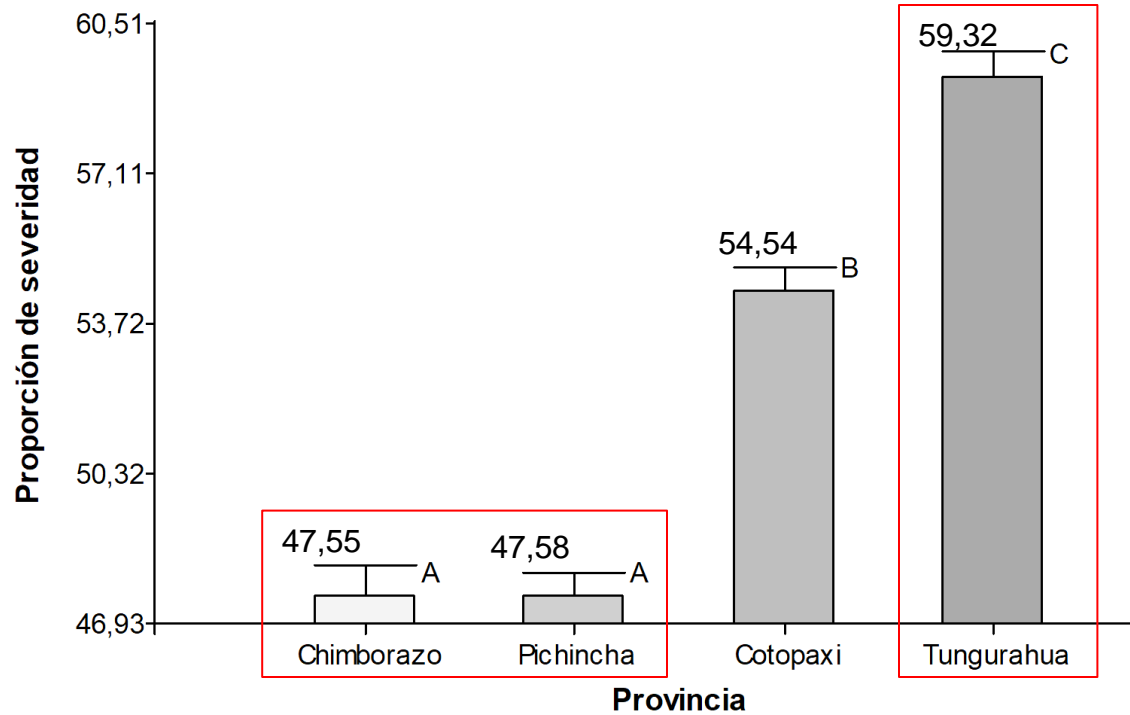


Mandipropamid (F1), Mancozeb (F2), Clorotalonil (F3), Dimetomorf (F4), Propamocarb (F5), Cimoxanil (F6), Metalaxil (F7)



Provincia

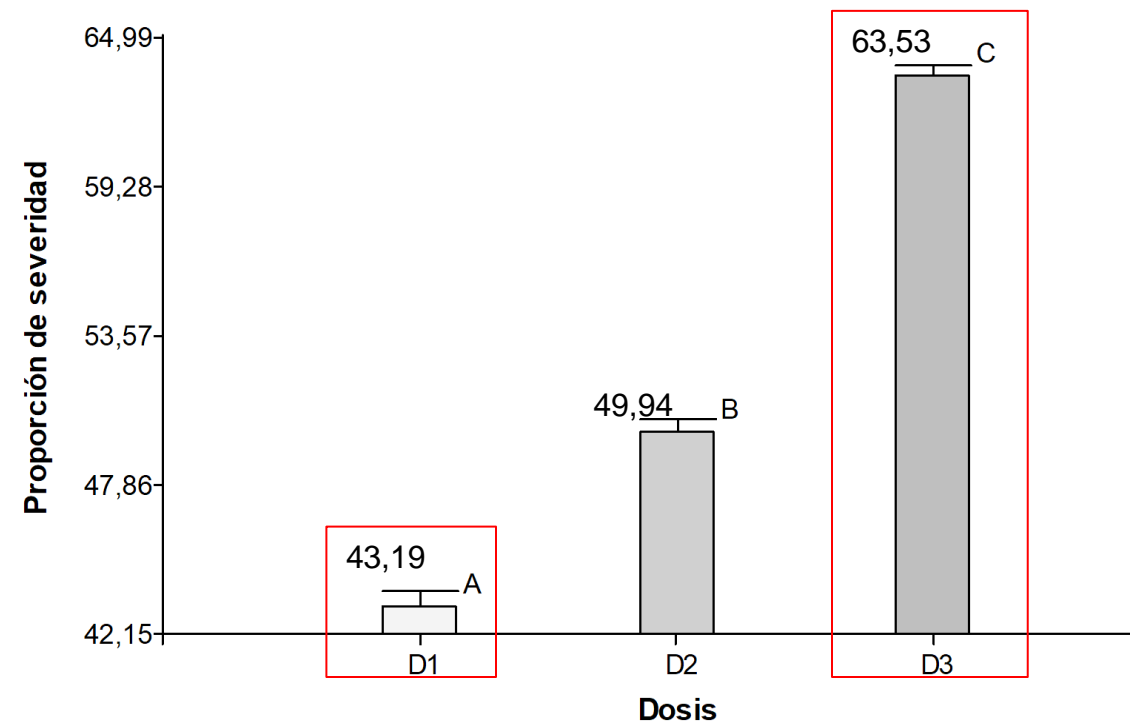
Provincia vs Severidad



Reporte sobre los rendimientos objetivos de la papa, problemas fitosanitarios (tizón tardío):
Tungurahua 51% y Chimborazo 48%.

Dosis

Dosis vs Severidad



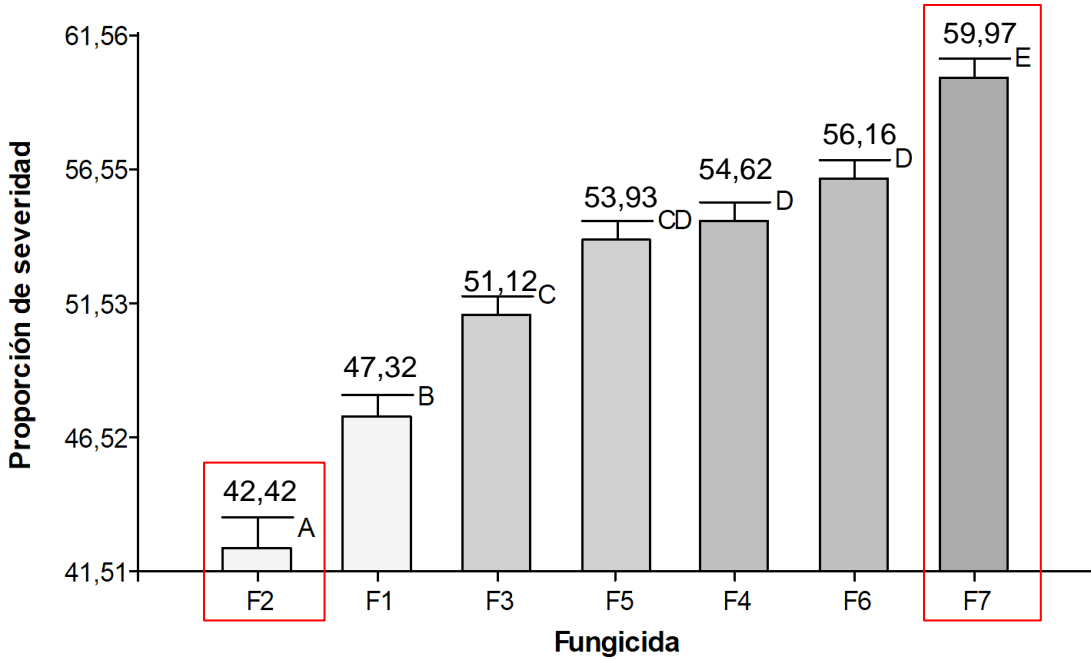
Relación inversamente proporcional entre la dosis y la severidad

Pruebas post-hoc - SEVERIDAD

Resultados y discusión

Fungicida

Fungicida vs Severidad

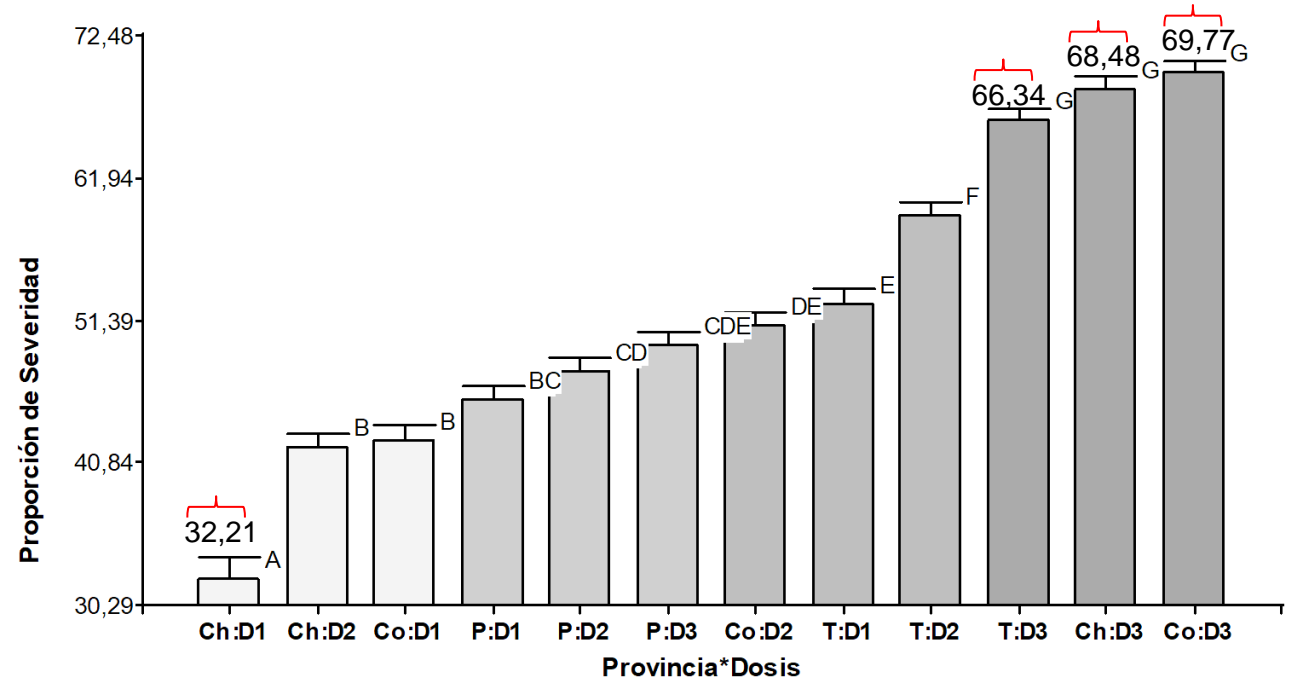


Mandipropamid (F1), Mancozeb (F2), Clorotalonil (F3), Dimetomorf (F4), Propamocarb (F5), Cimoxanil (F6), Metalaxil (F7)

Otros estudios: Severidad con Mancozeb 31%
y con Metalaxil 57%

Provincia - Dosis

Interacción Provincia - Dosis



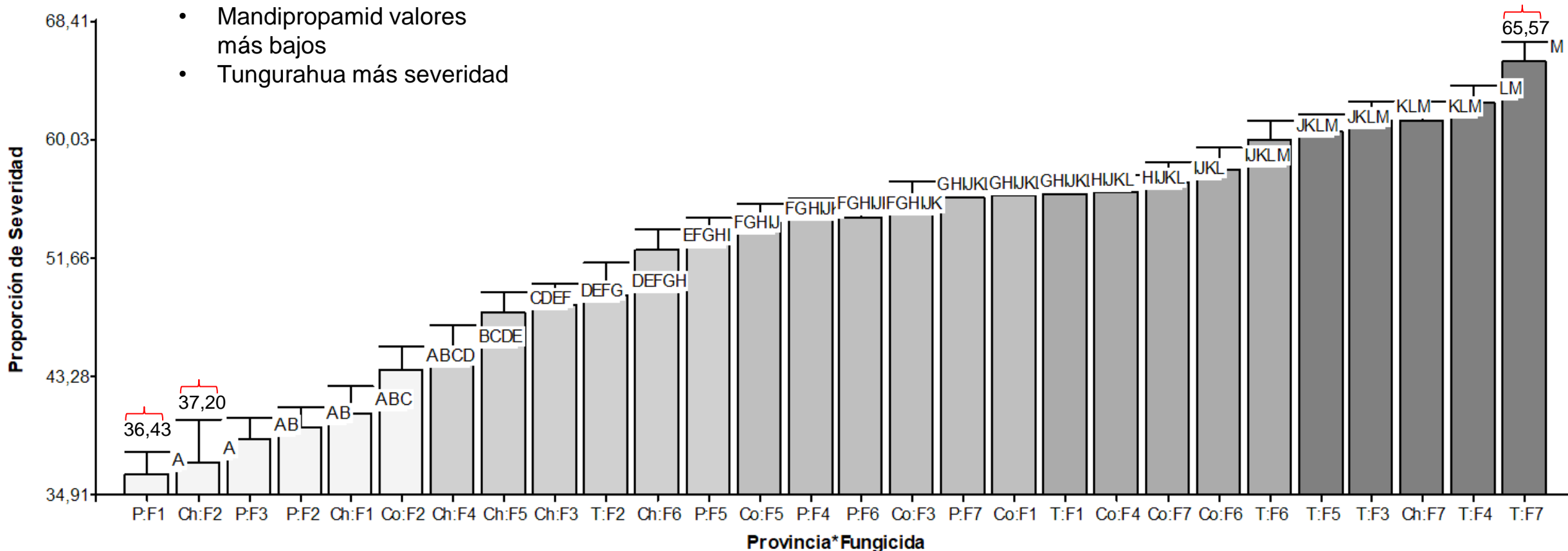
Diferencias significativas en la severidad de *P. infestans* en función de la provincia y la dosis del fungicida utilizado

↓ Chimborazo – Pichincha (D1, D2)
↑ Cotopaxi Tungurahua (D3)

Provincia - Fungicida

Interacción Provincia - Fungicida

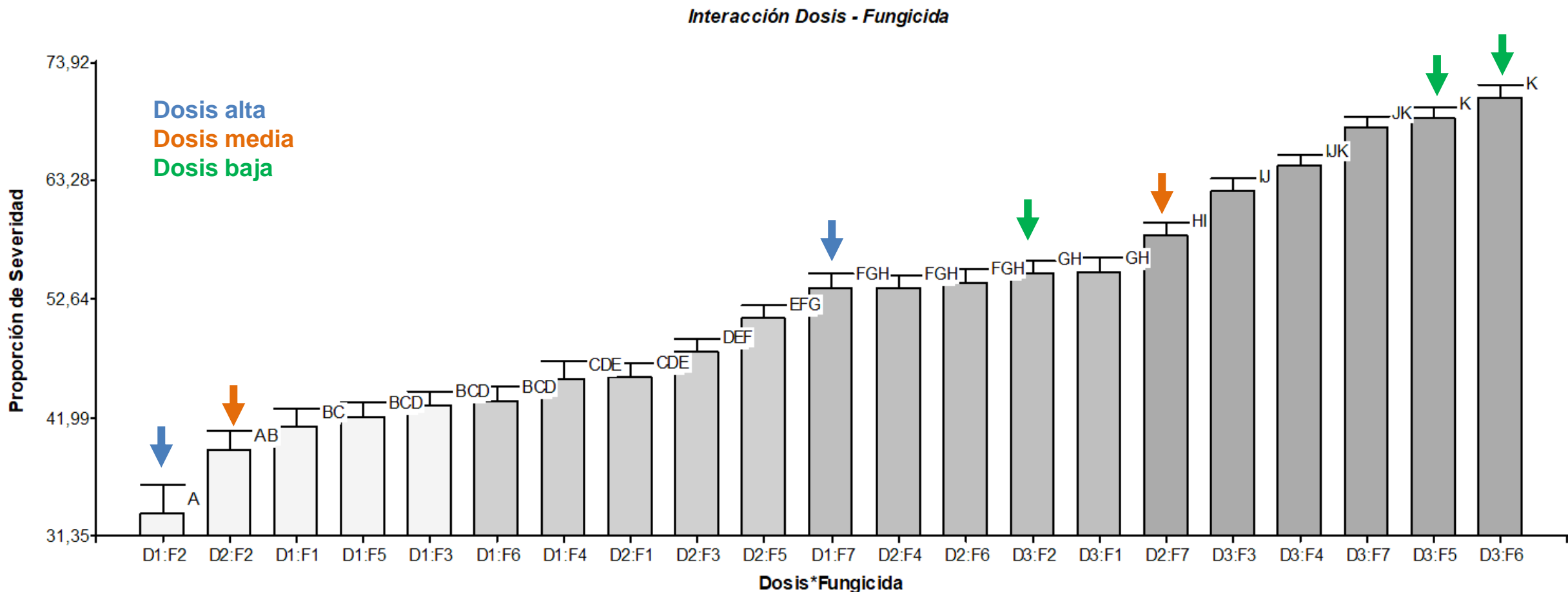
- Mandipropamid valores más bajos
- Tungurahua más severidad



Mandipropamid (F1), Mancozeb (F2), Clorotalonil (F3), Dimetomorf (F4), Propamocarb (F5), Cimoxanil (F6), Metalaxil (F7)



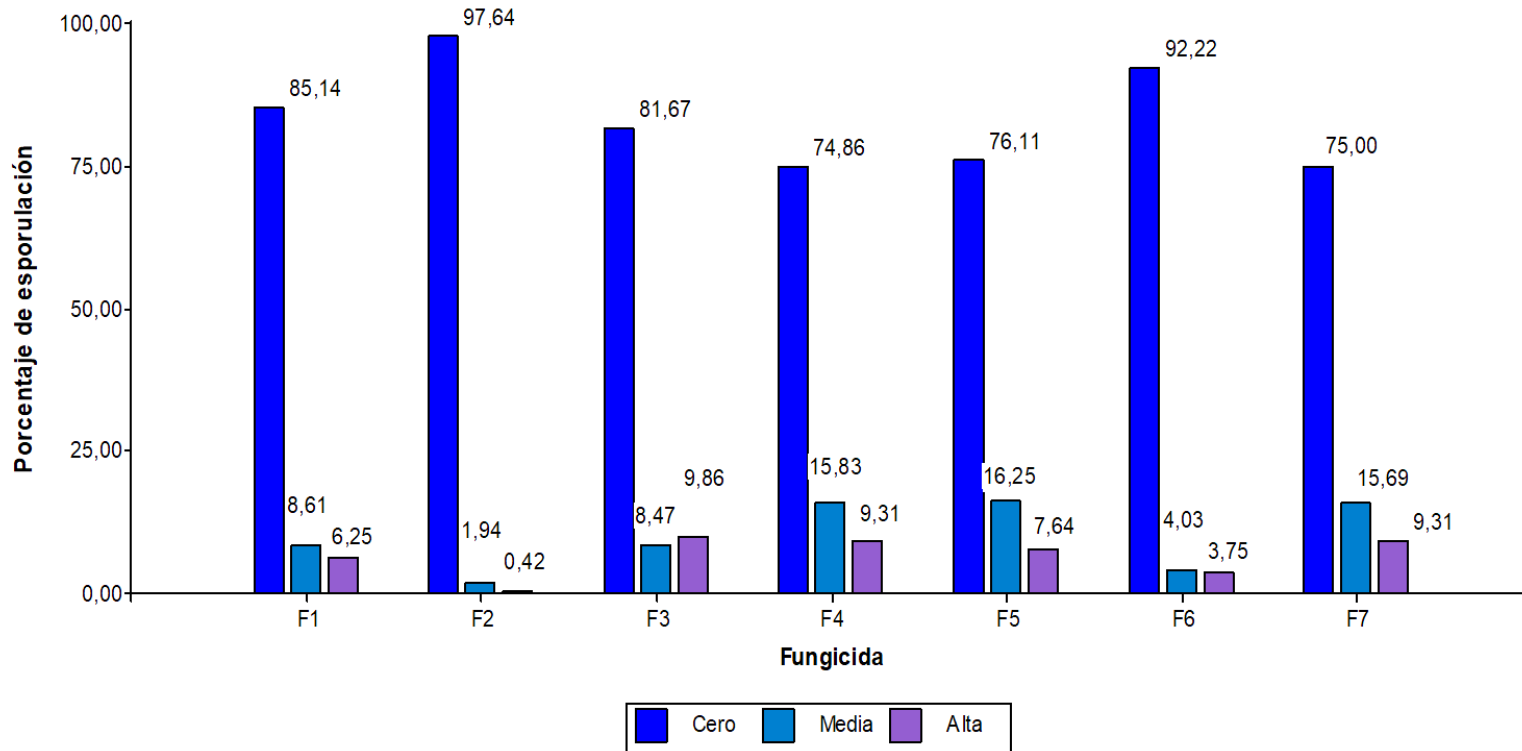
Dosis - Fungicida



Mandipropamid (F1), Mancozeb (F2), Clorotalonil (F3), Dimetomorf (F4), Propamocarb (F5), Cimoxanil (F6), Metalaxil (F7)



Porcentaje de esporulación por fungicida



Dosis comercial

- esporulaciones más bajas
- mayor eficiencia frente a dosis menores

Mancozeb 2,36% esporulación
Metalaxil 25% esporulación

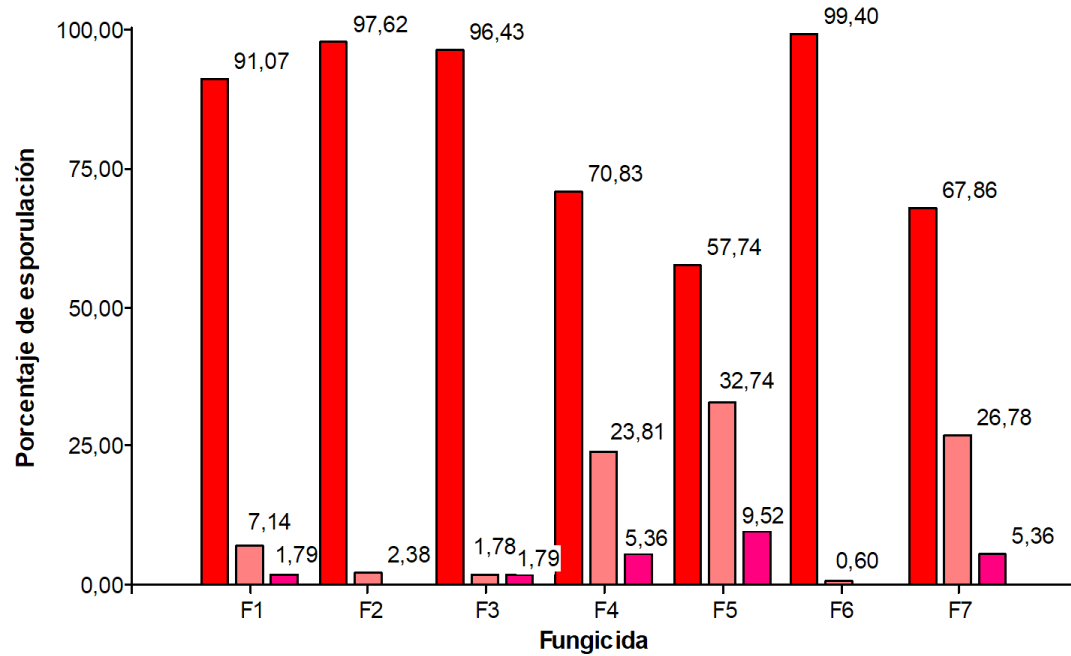
Estadístico	DF	Valor	Probabilidad
Chi-cuadrado	12	270.2519	<0.0001
Ratio chi-cuadrado de la verosimilitud	12	320.3695	<0.0001
Chi-cuadrado Mantel-Haenszel	1	5.9234	0.0149

La relación entre la esporulación y el fungicida no es casualidad

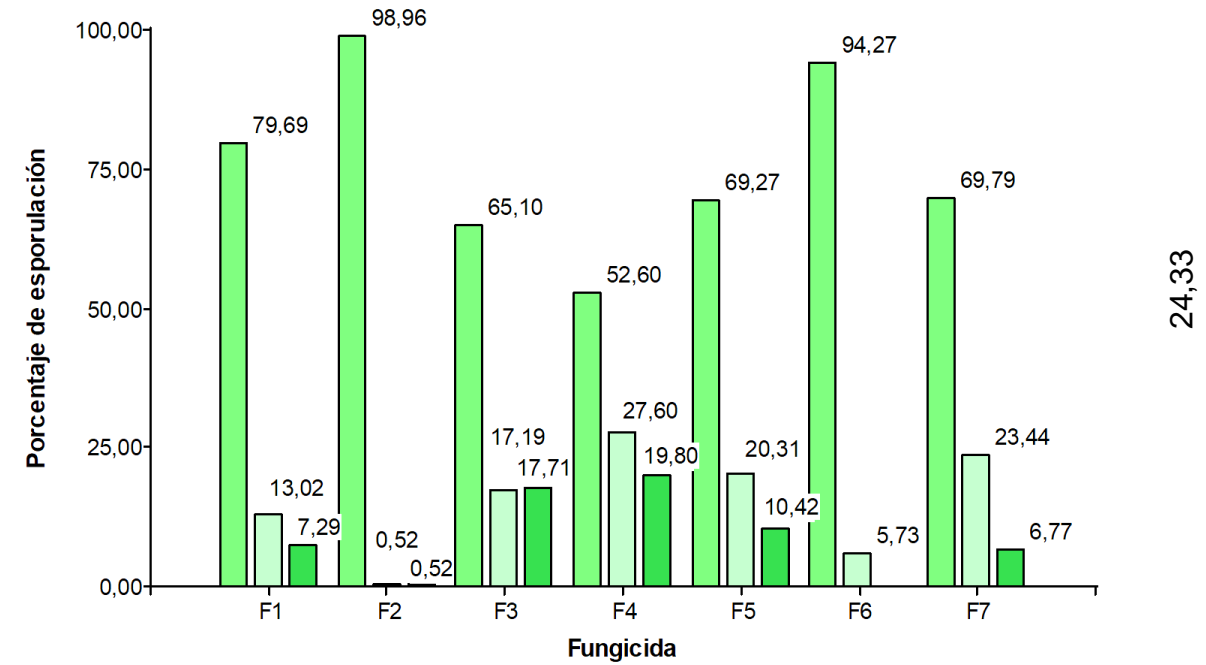
El modelo que incluye al fungicida tiene un ajuste significativamente mejor que el modelo sin la variable

El fungicida utilizado está significativamente relacionado con la esporulación

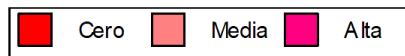
Porcentaje de esporulación por fungicida en Pichincha



Porcentaje de esporulación por fungicida en Tungurahua



Cimoxanil (F6) 0,60%
Propamocarb (F5) 42,26%

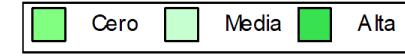


La relación entre la esporulación y el fungicida no es casualidad

El modelo que incluye al fungicida tiene un ajuste significativamente mejor que el modelo sin la variable

El fungicida utilizado está significativamente relacionado con la esporulación

Mancozeb (F2) 1,04%
Dimetomorf (F4) 47,4%



Estadístico	DF	Valor	Probabilidad
Chi-cuadrado	12	209,9742	<0,0001
Ratio chi-cuadrado de la verosimilitud	12	232,5783	<0,0001
Chi-cuadrado Mantel-Haenszel	1	17,2897	<0,0001

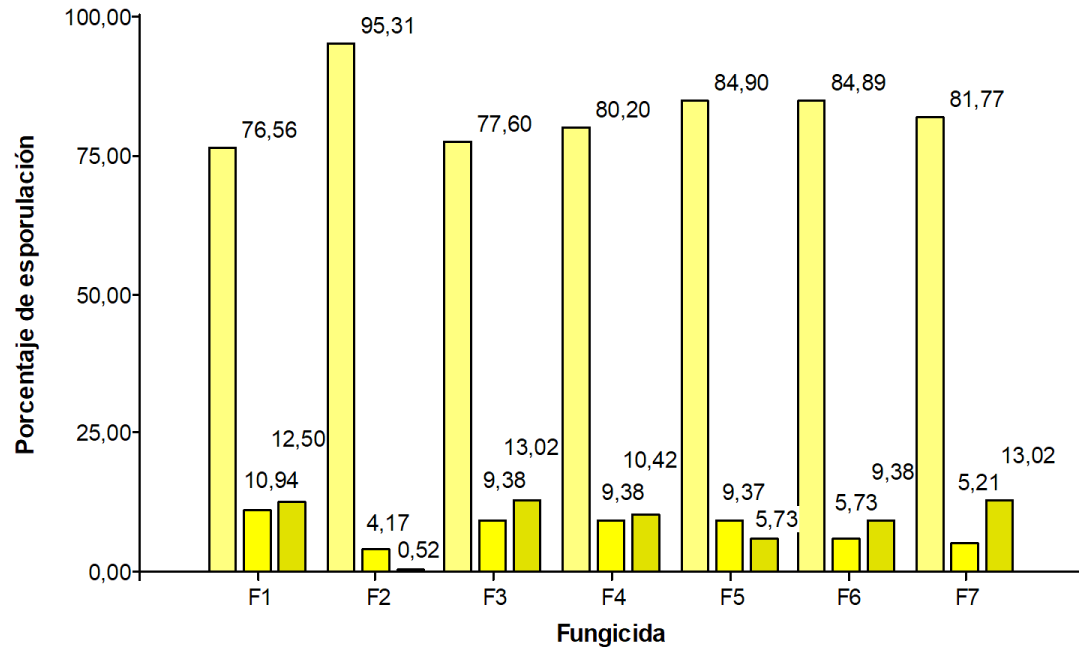
Estadístico	DF	Valor	Probabilidad
Chi-cuadrado	12	187,5380	<0,0001
Ratio chi-cuadrado de la verosimilitud	12	227,3631	<0,0001
Chi-cuadrado Mantel-Haenszel	1	8,5702	0,0034

Mandipropamid (F1), Mancozeb (F2), Clorotalonil (F3), Dimetomorf (F4), Propamocarb (F5), Cimoxanil (F6), Metalaxil (F7)

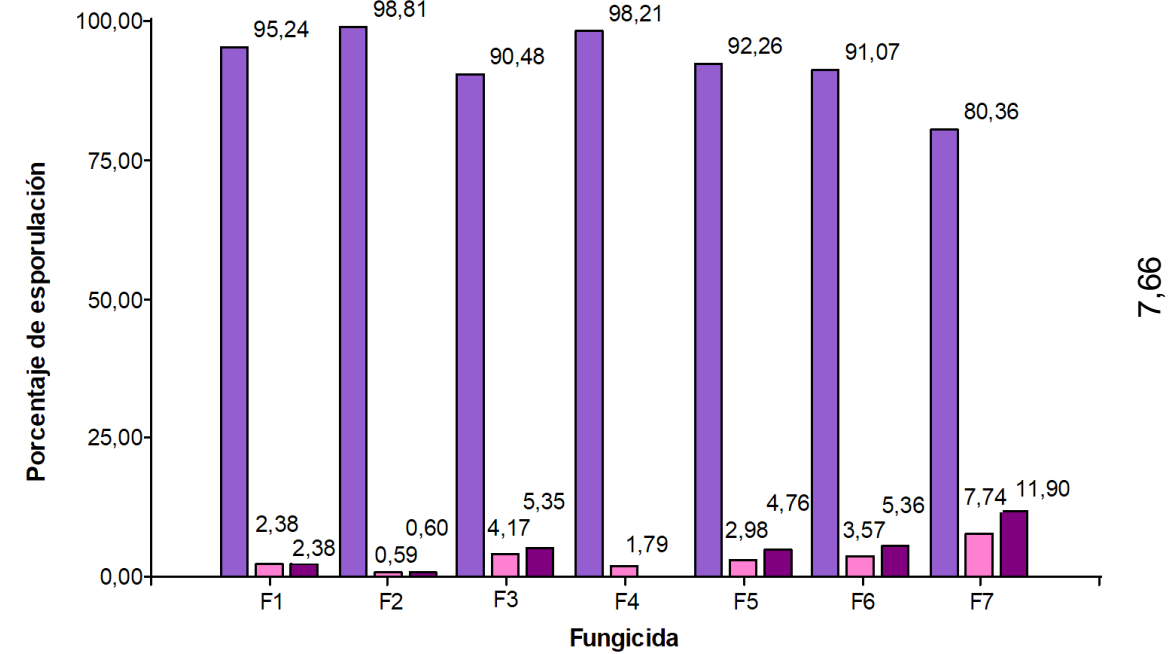


ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Porcentaje de esporulación por fungicida en Cotopaxi



Porcentaje de esporulación por fungicida en Chimborazo



16,97

7,66

Mancozeb (F2) 4,69%
Mandipropamid (F1) 23,44%



Mancozeb (F2) 1,19%
Metalaxil (F7) 19,64%

La relación entre la esporulación y el fungicida no es casualidad

El modelo que incluye al fungicida tiene un ajuste significativamente mejor que el modelo sin la variable

El fungicida utilizado está significativamente relacionado con la esporulación

Estadístico	DF	Valor	Probabilidad
Chi-cuadrado	12	42,6451	<0,0001
Ratio chi-cuadrado de la verosimilitud	12	54,4496	<0,0001
Chi-cuadrado Mantel-Haenszel	1	2,7428	0,0977

Estadístico	DF	Valor	Probabilidad
Chi-cuadrado	12	57,2453	<0,0001
Ratio chi-cuadrado de la verosimilitud	12	60,2965	<0,0001
Chi-cuadrado Mantel-Haenszel	1	2,1789	0,1399



Cálculo CE50

Código	Fungicida	CE50 [ppm]	Dosis alta utilizada [ppm]
F1	Mandipropamid	13351	25000
F2	Mancozeb	-	10000
F3	Clorotalonil	9861	10000
F4	Dimetomorf	571	600
F5	Propamocarb	12981	10000
F6	Cimoxanil	86501	75000
F7	Metalaxil	3521	3000



Sensibilidad

Provincia	Fungicida	Crecimiento [%]	Sensibilidad
Pichincha	F1	36,43	Intermedio
	F2	39,67	Intermedio
	F3	38,91	Intermedio
	F4	54,47	Resistente
	F5	53,13	Resistente
	F6	54,94	Resistente
	F7	55,95	Resistente

Provincia	Fungicida	Crecimiento [%]	Sensibilidad
Tungurahua	F1	56,13	Intermedio
	F2	49,01	Intermedio
	F3	61,34	Resistente
	F4	62,61	Resistente
	F5	60,55	Resistente
	F6	59,99	Resistente
	F7	65,57	Resistente

Provincia	Fungicida	Crecimiento [%]	Sensibilidad
Cotopaxi	F1	56,02	Resistente
	F2	43,78	Intermedio
	F3	55,85	Resistente
	F4	56,27	Resistente
	F5	54,18	Resistente
	F6	57,93	Resistente
	F7	57,02	Resistente

Provincia	Fungicida	Crecimiento [%]	Sensibilidad
Chimborazo	F1	40,70	Intermedio
	F2	37,20	Intermedio
	F3	48,38	Intermedio
	F4	45,12	Intermedio
	F5	47,85	Intermedio
	F6	52,21	Resistente
	F7	61,34	Resistente

Ecuador

Uso de f. sistémicos 65% y f. de contacto 35%

Mandipropamid – no se han encontrado cepas resistentes en el mundo

Mancozeb – en varios estudios los aislamientos fueron sensibles

Clorotalonil – sensibilidad intermedia

Dimetomorf – resistencia no está muy desarrollada mundialmente

Propamocarb – sobreexposición a dosis no letales ha generado resistencia

Cimoxanil – Resistencia intermedia

Metalaxil – RESISTENCIA (México, Perú, China, Serbia) En Ecuador se reportó en 1993



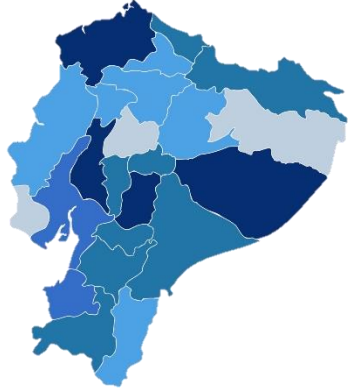
- Tanto el fungicida, la dosis y la provincia de donde se muestreo *P. infestans* influyeron en la severidad e incidencia de infección del patógeno.
- Los fungicidas de contacto o preventivos resultaron ser los más eficientes al momento de controlar la enfermedad, es decir no se encontró alta resistencia a estos en las poblaciones de *P. infestans* estudiados.
- Las poblaciones de *P. infestans* tomadas de Pichincha, Tungurahua, Cotopaxi y Chimborazo presentaron resistencia a los fungicidas sistémicos cimoxanil, dimetomorf, propamocarb y metalaxil por ello es necesario realizar rotaciones de los ingredientes activos para evitar a futuro una pérdida mayor de sensibilidad.



- Mancozeb tuvo los porcentajes más bajos de incidencia, severidad y esporulación. Mientras que los porcentajes más altos de estas variables se encontraron con el uso de fungicidas sistémicos en dosis bajas.
- La población del patógeno proveniente de Chimborazo tuvo la mayor respuesta de sensibilidad a los fungicidas evaluados, mientras que la de Tungurahua fue la que reportó mayor resistencia.
- Es necesario un manejo integrado de control para *P. infestans* en fin de mantener niveles bajos de infección, disminuir el daño a la salud humana e impacto ambiental, y reducir el riesgo de resistencia a los agroquímicos.



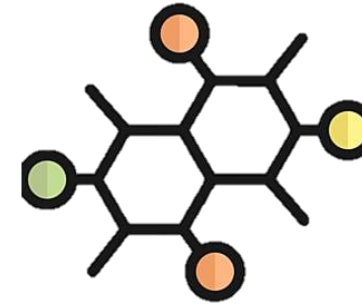
Realidad Nacional →
ampliar el muestreo



Aumentar los rangos de
dosis



Precaución en el uso de
fungicidas, especialmente
metalaxil



Nuevos productos



Agradecimientos



Mgs. Cristina Tello
M. Sc. Petronio Gavilanes
M. Sc. Marco Taípe
Mgs. Pablo Llumiquinga
Ing. Yolanda Leiton
Instituto Nacional de Investigaciones
Agropecuarias – INIAP
Departamento Nacional de Protección
Vegetal
Laboratorio de Fitopatología

Familia y amigos

El trabajo de titulación fue realizado dentro del marco de actividades del proyecto regional **FONTAGRO ATN/RF 16678-RG**, para la “Implementación de un sistema de alerta temprana para manejo preventivo sustentable del Tizón tardío de la papa (TT)”.

