

ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD PATOGENICA DE AISLAMIENTOS DE  
Phytophthora infestans (Mont.) de Bary, DE LAS REGIONES DE MAYOR  
PRODUCCION DE PAPA EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO

MIGUEL ANGEL MEJIA AYALA

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS  
PROGRAMA DE BIOLOGÍA  
SAN JUAN DE PASTO

2001

ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD PATOGENICA DE AISLAMIENTOS DE  
Phytophthora infestans (Mont.) de Bary, DE LAS REGIONES DE MAYOR  
PRODUCCION DE PAPA EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO

MIGUEL ANGEL MEJIA AYALA

Tesis de grado presentada para optar al titulo de Biólogo con énfasis en  
Microbiología

DIRECTOR

LUZ ESTELA LAGOS MORA M.Sc

UNIVERSIDAD DE NARIÑO

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS

PROGRAMA DE BIOLOGÍA

SAN JUAN DE PASTO

2001

**NOTA DE ACEPTACION**

---

LUZ ESTELA LAGOS MORA  
DIRECTOR

---

LUIS FERNADO CAMPUZANO DUQUE  
JURADO

---

BENJAMIN SAÑUDO SOTELO  
JURADO

---

JAQUELINE MENA HUERTAS  
JURADO

San Juan de Pasto, Diciembre de 2001

“las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son  
responsabilidad exclusiva de su autor”.

Artículo 1° del acuerdo N° 324 de octubre 11 de 1996, Emanado del  
Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Este proyecto fue financiado por la Corporación Colombiana de  
Investigación Agropecuaria CORPOICA Regional 5 en convenio con la  
Universidad de Nariño.

## **AGRADECIMIENTOS**

El autor expresa sus agradecimientos a :

Luis Fernando Campuzano. I.A. Ph.D. Director Centro de Investigación Obonuco - CORPOICA.

Luz Estela Lagos. M.Sc. Profesora Universidad de Nariño.

Jaime Benavides. I.A. M.Sc. Centro de Investigación Obonuco - CORPOICA.

Ricardo Oliva. Biólogo. Asistente de Investigación CIP-Quito.

Sonia Jaramillo Villegas. I.A. M.Sc. Profesora Facultad Ciencias Agrícolas, Universidad Nacional de Medellín.

Fabiola Andrea Romo. Bióloga. Universidad de Nariño.

Julio Enríquez. Asistente de Investigación. Centro de Investigación Obonuco – CORPOICA.

Jairo Sánchez. Asistente de Investigación. Centro de Investigación Obonuco – CORPOICA.

A todos y cada uno de los trabajadores de CORPOICA Regional 5 Obonuco, por su ayuda incondicional en todo momento. A los auxiliares de laboratorio de la Universidad de Nariño, Profesores y compañeros.

## CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCION	1
2. OBJETIVOS	3
3.MARCO TEORICO	4
3.1 IMPORTANCIA DE <u>Phytophthora infestans</u>	4
3.2 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN DE <u>Phytophthora infestans</u>	6
3.3 POSICIÓN TAXONÓMICA DE <u>Phytophthora infestans</u>	8
3.4 REPRODUCCION ASEXUAL DE <u>Phytophthora infestans</u>	11
3.5 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VARIABILIDAD DE <u>Phytophthora infestans</u>	14
3.6 SINTOMATOLOGÍA Y DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD	17
3.7 RELACIÓN ALTITUDINAL CON LA PRESENCIA DE <u>Phytophthora infestans</u>	20
3.8 MECANISMOS DE VARIACION GENETICA EN <u>P. infestans</u>	21
3.9 RAZAS FISIOLÓGICAS DE <u>Phytophthora infestans</u>	24
3.10 ESTUDIOS SOBRE EL CONOCIMIENTO DE RAZAS FISIOLOGICAS EN <u>P. infestans</u>	28
3.10.1 Reconocimiento de razas fisiológicas en el mundo	32
4. METODOLOGIA	36

4.1 LOCALIZACIÓN	36
4.2 MÉTODOS	39
4.2.1 Siembra de los diferenciales	39
4.2.2 Purificación y conservación de los aislamientos	43
4.2.3 Determinación de las razas fisiológicas de <u>P. infestans</u>	43
5. RESULTADOS	51
6. DISCUSION	56
7. CONCLUSIONES	61
8. RECOMENDACIONES	63
BIBLIOGRAFIA	65
ANEXOS	74

## LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Nariño. Costos de producción de papa semestre A/2001 (\$/ha).	7
Cuadro 2. Definición de algunos linajes clónales para <u>P. infestans</u> .	23
Cuadro 3. Diversidad de razas en poblaciones de <u>Phytophthora Infestans</u> .	35
Cuadro 4. Datos multianuales de temperatura y humedad relativa de estaciones meteorológicas IDEAM – 2001.	38
Cuadro 5. Cuadro de colección de aislamientos de <u>Phytophthora infestans</u> en el Departamento de Nariño.	41
Cuadro 6. Compatibilidad de aislamientos de <u>P. infestans</u> con cultivares diferenciales de papa.	52

Cuadro 7.	Frecuencia de las razas fisiológicas de <u>P. infestans</u> en los aislamientos encontrados.	53
Cuadro 8.	Frecuencia del número de factores de virulencia de <u>P. infestans</u> .	53
Cuadro 9.	Promedio de factores de virulencia de <u>P. infestans</u> de acuerdo al rango altitudinal.	55
Cuadro 10.	Frecuencia de factores de virulencia de varias colecciones de <u>P. infestans</u> en el mundo.	58
Cuadro 11.	Diversidad de razas en poblaciones de <u>Phytophthora infestans</u> .	58

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ciclo de vida de <u>Phytophthora infestans</u> .	13
Figura 2. Mapa de localización geográfica de las zonas de colección de <u>P. infestans</u> en el Departamento de Nariño.	37
Figura 3. Siembra de las variedades diferenciales en la casa malla del centro de investigación Obonuco.	42
Figura 4. Distancias de siembra por cada era.	42
Figura 5. 30 a 50 días después de la siembra de las variedades diferenciales en la casa malla.	46
Figura 6. Foliolo con tratamiento.	46
Figura 7. Cajas petri en cámara húmeda.	47

Figura 8. Cajas plásticas con los tratamientos para todos los diferenciales.	47
Figura 9. Temperatura controlada.	48
Figura 10. Temperatura sin control.	49
Figura 11. Reacción de compatibilidad.	50
Figura 12. Reacción de hipersensibilidad.	50

## INDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
Anexo A . Preparación Agar Arveja.	75
Anexo B. Frecuencia de razas y número de diferenciales afectados por aislamientos de <u>P. infestans</u> .	76
Anexo C. Frecuencia del número de factores de virulencia de <u>P. infestans</u> .	77
Anexo D. Frecuencia de las razas fisiológicas de <u>P. infestans</u> .	78
Anexo E. Plantilla de control de resultados de compatibilidad e hipersensibilidad durante el tratamiento.	79
Anexo F. Mapa de localización de razas fisiológicas en el Departamento de Nariño.	80

## **GLOSARIO**

ASPERJAR : Riego por aspersión.

ALELO : Una de las dos o más formas que pueden darse en un locus determinado.

BIOTIPOS : También denominados como cepas, se producen dentro de la población de un patógeno, con diferentes grados de virulencia en un mismo hospedero.

CLON : Una línea de células, surgidas todas de una misma célula única por divisiones repetidas; población de individuos derivados por reproducción asexual a partir de un solo antecesor.

CULTIVO : Tejido o células que se multiplican por división asexual que se hacen proliferar para experimentación.

DIPLOIDE : Célula que contiene dos dotaciones cromosómicas, o individuo en el que cada una de sus células contiene dos dotaciones cromosómicas.

ESPORA : Célula reproductiva que da origen a un individuo en plantas, algas, hongos y ciertos protozoos.

ESPORANGIOS : Envoltura de esporas, presente en plantas y ciertos protistas y hongos.

ESPORANGIOFOROS : Hifa o rama especializada que lleva uno o más esporangios.

ESPORULACION : Transformación de células vegetativas en esporas.

ESTOMA : Poros pequeños, flanqueados por dos células guarda en la epidermis de la planta, que participan en el intercambio gaseoso para la fotosíntesis.

FEROMONA : Sustancia secretada por un organismo en el ambiente externo; influye en la conducta de otros miembros de la misma especie.

FITOALEXINAS : sustancias producidas por las plantas como mecanismo de defensa natural para combatir infecciones. Las Fitoalexinas son sustancias tóxicas para las bacterias y hongos.

GEN : Unidad fundamental, física y funcional, de la herencia, que transmite información de una generación a la siguiente; tramo de DNA compuesto de una región que se transcribe o una secuencia reguladora que hace posible la transcripción.

HIPERSENSIBILIDAD : Mecanismo de resistencia de ciertas plantas o variedades hacia los parásitos estrictos; las células huéspedes mueren brutalmente, por la penetración del patógeno, y, como este es incapaz de desarrollarse saprofiticamente, la infección aborta.

HOSPEDANTES : Quien es recibido por el hospedero.

HOSPEDERO : Ente quien recibe o tiene a cargo al hospedante.

LOCUS : Sitio de un cromosoma en que se localiza el gen correspondiente a un rasgo dado.

MUTACION : Cambio del DNA, incluido los de pares de bases de nucleótidos de un gen, o reordenamiento de genes en los cromosomas, de modo que sus interacciones producen diferentes efectos; cambio en los cromosomas mismos.

NECROSIS : Muerte tisular de tipo local que afecta a tejidos, órganos o partes de ellos.

PATOGENO : Organismo que causa enfermedades.

PROTISTA : Cualquiera de numerosos organismos eucariontes, principalmente unicelulares o multicelulares sencillos en su mayoría acuáticos.

RAZAS : Corresponden a una especialización de una especie o de una forma específica para atacar determinadas variedades dentro de un mismo hospedero.

RESISTENCIA HORIZONTAL : Tipo de resistencia que está gobernada por poligenes, ósea genes mayores y menores, que ocupan distintos locus cromosómicos.

RESISTENCIA VERTICAL : Denominada también como resistencia específica, monogénica, la cual depende de uno o pocos pares de genes responsables de la defensa estructural o la respuesta activa al patógeno.

VARIEDADES DIFERENCIALES : Variedades de plantas o alguna otra especie que reaccionan específicamente y característicamente frente a una raza.

VIRULENCIA : Fuerza o capacidad patogénica de una enfermedad.

## **RESUMEN**

Uno de los problemas más limitantes en el cultivo de la papa lo constituye la gota o tizón tardío, ocasionada por Phytophthora infestans (Mont.) de Bary, cuyo control en el Departamento de Nariño mediante el uso de funguicidas genera costos superiores a los \$800.000 pesos/ha año, constituyéndose en un factor determinante en el impacto socio-económico y ambiental de esta región.

La identificación de razas fisiológicas de este patógeno en el Departamento de Nariño, se realizó con aislamientos obtenidos de plantas infectadas de diferentes variedades de papa (Solanum tuberosum L.), recolectadas en los municipios de mayor producción de este tubérculo a diferentes pisos altitudinales.

Los resultados obtenidos demuestran una frecuencia del 50% perteneciente a la raza 7776, un 9.37% para la raza 7756, con un 6.25% las razas 7752 y 5756 y un 28.13% restante para diferentes razas encontradas sin similitud en su código, en alturas que varían entre los 2540 m.s.n.m. a 3160 m.s.n.m. El mayor porcentaje de razas se obtuvo en pisos altitudinales superiores a los 2750 m.s.n.m. y en zonas que

presentan una humedad relativa promedio de 83.8% y 12.9°C anuales según datos de estaciones IDEAM.

Con el desarrollo de la investigación se demuestra que la raza 7776 es la más virulenta y la de mayor frecuencia, se localiza en zonas donde la altura y humedad relativa presenta condiciones favorables para el desarrollo del patógeno, además se demuestra la gran complejidad presentada por este patógeno en el Departamento de Nariño.

## **SUMMARY**

One of the most restrictive problems in the cultivation of the potato constitutes it the drop or late blight, caused by Phytophthora infestans (Mont.) of Bary, whose control in the Department of Nariño by means of the fungicide use generates superior costs to the \$800.000 pesos/ha year, being constituted in a decisive factor in the socio-economic and environmental impact of this region.

The identification of physiologic races of this pathogenic in the Department of Nariño, was carried out with obtained isolations of infected plants of different potato varieties (Solanum tuberosum L.), gathered in the municipalities of more production from this tuber to different floors altitude.

The obtained results demonstrate a frequency of 50% belonging to the race 7776, 9.37% for the race 7756, with 6.25% the races 7752 and 5756 and 28.13% remaining for different opposing races without similarity in their code, in heights that vary among the 2540 to 3160 meters above sea level. The biggest percentage of races was obtained in floors superior altitude to the 2750 meters above sea level and in areas that present a humidity

relative average of 83.8% and 12.9°C annuals according to data of stations IDEAM.

With the development of the investigation it is demonstrated that the race 7776 is the most virulent and that of more frequency, is located in areas where the height and relative humidity presents favorable conditions for the development of the pathogenic, the great complexity is also demonstrated presented by this pathogenic in the Department of Nariño.

## 1. INTRODUCCION

En Nariño una actividad agrícola de gran importancia económica y social lo constituye el cultivo de papa (Solanum tuberosum L.), el cual hace parte de la alimentación y sustento de gran parte de la población de esta región. Sin embargo, este cultivo se ve sometido a una fuerte presión por plagas y enfermedades, siendo la gota o tizón tardío, enfermedad causada por el patógeno Phytophthora infestans, la más limitante, debido al cultivo de variedades susceptibles (Alvarado, 1990).

En varias oportunidades P. infestans ha alcanzado proporciones desastrosas, como la registrada en Irlanda entre 1845 a 1850 cuando, como consecuencia de una epifitotia de este patógeno, murieron un millón de personas y otro millón y medio emigraron del país, pues la biología de la enfermedad y los métodos de su control eran totalmente desconocidos (Henfling, 1987).

El primer síntoma del ataque de P. infestans consiste en una película algodonosa sobre la hoja, más tarde forman manchas blanco-grisáceas en estas, afectando posteriormente los tallos y los tubérculos, hasta causar la

destrucción total de la planta. Las condiciones ambientales en que se desarrolla el cultivo coinciden con las condiciones que le son favorables al patógeno para desarrollarse e infectar. Los días frescos y nublados con lluvias frecuentes, temperaturas entre los 15 y 25°C, son óptimos para el establecimiento de la enfermedad, estas condiciones son frecuentes en las diferentes zonas donde se siembra la papa (García, 1997).

La enfermedad puede ser controlada con relativa facilidad mediante la aplicación de funguicidas. Pero en muchos países en desarrollo, con sistemas de producción de subsistencia, el control químico es poco factible debido a los altos costos (Henfling, 1987).

El presente trabajo estudia la población de Phytophthora infestans en el Departamento de Nariño, con el objeto de realizar la identificación de razas fisiológicas en diferentes pisos altitudinales, contribuyendo así al entendimiento del ataque de este patógeno en esta zona y un aporte a los futuros planes de control que se desarrollen contra esta enfermedad.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

Identificar la variabilidad patogénica de Phytophthora infestans en papa, con base en el sistema de caracterización de razas fisiológicas en diferentes pisos térmicos del Departamento de Nariño.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

**2.2.1** Determinar los patotipos o razas fisiológicas de P. infestans de los aislamientos colectados en diferentes pisos altitudinales del Departamento de Nariño.

**2.2.2** Cuantificar la frecuencia de razas fisiológicas de P. infestans en los clones de papa.

**2.2.3** Determinar el promedio de factores de virulencia en el Departamento de Nariño de acuerdo al rango altitudinal.

### **3. MARCO TEORICO**

#### **3.1 IMPORTANCIA DE Phytophthora infestans**

La “gota” o tizón tardío de la papa, causada por Phytophthora infestans (Mont.) de Bary, es un factor limitante de la producción en casi todos los países cultivadores de este tubérculo (De Rojas, 1953). Alrededor de 1820, este patógeno fue introducido a Europa, proveniente de América, para 1845 se constituyó como la principal enfermedad del cultivo de la papa, luego de causar la destrucción de extensos campos Irlandeses cultivados con el tubérculo; ocasionando la conocida “Hambruna de Irlanda”, en la cual murieron cerca de un millón de personas por causas de desnutrición y emigro otra considerable porción de la población hacia Estados Unidos y Canadá, pues este cultivo era su base alimenticia (Urquijo y Santoalla, 1961; Castaño, 1996).

Phytophthora infestans muestra también una gran virulencia en otras especies de la familia Solanácea. La enfermedad puede destruir el follaje y los tallos de éstas en cualquier momento durante la estación de crecimiento de las plantas. También puede atacar los tubérculos de la

papa y los frutos del tomate en el campo, así como en almacenamiento (Agrios, 1996).

La gota puede destruir totalmente todas las plantas de una zona de cultivo al cabo de una o dos semanas, cuando las condiciones climáticas son favorables y no se aplica ningún método de control (Agrios, 1996).

Actualmente la gota es la enfermedad más devastadora de la papa, por lo tanto los cultivos de papa deben ser asperjados periódicamente con fungicidas para protegerlos del patógeno, el costo de dicho control se ha calculado en 1.8 billones de dólares en el mundo (Castaño, 1996).

La importancia económica y social de Phytophthora infestans no solo se debe a su impacto sobre los productos básicos de la alimentación mundial, sino también, por las investigaciones generadas a su alrededor, contribuyendo al desarrollo de la ciencia con hallazgos que han servido de origen, base y progreso de la fitopatología, por más de 150 años (Robertson, 1991).

En Nariño el control de esta enfermedad genera costos anuales superiores a los \$800.000 pesos/ha, como se determina en el Cuadro 1.

### **3.2 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN DE Phytophthora infestans**

Es generalmente considerado que Phytophthora infestans se ha mantenido en coevolución con hospedantes Solanáceos silvestres. El determinar el centro donde ha ocurrido esta coevolución ha dado origen a conjeturas científicas, así, algunos señalan el centro de México (Valle de Toluca) como el origen de este. Esta opinión respaldada, por el hecho de haberse encontrado allí, inicialmente, los dos grupos de compatibilidad sexual, denominados A1 y A2, por la alta complejidad genética y diversidad de razas fisiológicas, así como por los múltiples alelos en las aloenzimas peptidasa y glucosa fosfato isomerasa y por los diferentes patrones de DNA (Fingerprinting) allí determinados (French *et al*, 1994).

Phytophthora infestans ha migrado desde su centro de origen a todos los lugares del mundo donde se cultiva la papa. La primera migración del patógeno fue limitada, pues solamente se dispersó el tipo de apareamiento A1, situación que persistió por 130 años, limitándose a la reproducción de forma asexual. Hacia 1970, probablemente ocurrió una nueva migración a Europa por la importación de papa de varios países entre ellos México, para abastecer al mercado Europeo, como consecuencia de dos años de sequía en este continente. En esta ocasión no solo llegó el tipo A1, sino variantes más agresivos de ambos tipos, que desplazaron las antiguas poblaciones del patógeno. En pocos años esta nueva población cruzó

**CUADRO 1. Nariño. Costos de producción de papa semestre A/2001 (\$/ha)**

Actividad - Insumo	Cant.	Unidad	Valor Unitario	Valor Total	Participación (%)
<b>COSTOS DIRECTOS</b>					
<b>PREPARACION SUELO</b>					
Arada, rastrillada, surcada y tapada			16.000		
<b>Subtotal</b>				<b>144.000</b>	<b>2</b>
<b>MANO DE OBRA</b>					
selección de semilla	3	jornal	7.000	21.000	
Siembra	5	jornal	7.000	35.000	
Aplicación fertilizante	2	jornal	7.000	14.000	
Control gusano blanco y pulguilla	2	jornal	7.000	14.000	
Deshierba + 1er aporque y reabono	12	jornal	7.000	84.000	
Deshierba + 2do aporque	16	jornal	7.000	112.000	
Control insectos	6	jornal	7.000	42.000	
Control enfermedades	8	jornal	7.000	56.000	
Corte de rama	2	jornal	7.000	14.000	
Cosecha y empaque	55	jornal	7.000	385.000	
Acarreo agua	10	jornal	7.000	70.000	
<b>Subtotal</b>	<b>121</b>			<b>847.000</b>	<b>14</b>
<b>INSUMOS</b>					
Semilla	2000	Kg	600	1.200.000	
Fertilizante 10-30-10	34	bulto	37.000	1.258.000	
<b>Fertilizante foliar</b>	<b>6</b>	<b>litro</b>	<b>10.000</b>	<b>60.000</b>	
Furadan	6	litro	30.000	180.000	
Lorsban	2	litro	23.400	46.800	
<b>Fitorax</b>	<b>5</b>	<b>Kg</b>	<b>29.000</b>	<b>145.000</b>	
<b>Curzate</b>	<b>8</b>	<b>Kg</b>	<b>29.500</b>	<b>236.000</b>	
<b>Punch</b>	<b>1</b>	<b>Frasco</b>	<b>19.800</b>	<b>19.000</b>	
Empaque	400	Unidad	600	240.000	
Cabuya	3	rollo	5.000	15.000	
<b>Subtotal (US\$ = 1,491)</b>				<b>3.400.600</b>	<b>56</b>
<b>OTROS</b>					
Transportes		bulto			
<b>Subtotal</b>				<b>311.800</b>	<b>5</b>
<b>COSTOS DIRECTOS (US\$ = 2.063)</b>				<b>4.703.400</b>	<b>77</b>
<b>COSTOS INDIRECTOS</b>					
Intereses 21% en 8 meses				658.476	
Arrendamiento				500.000	
Administración 5% C.D				235.170	
<b>TOTAL COSTOS INDIRECTOS</b>				<b>1.393.046</b>	<b>23</b>
<b>COSTO TOTAL (US\$ = 2.674)</b>				<b>6.097.046</b>	<b>100</b>
<b>PRODUCCION OBTENIDA</b>	22.000	Kg			
Ingreso neto				1.000.154	<b>4.548.754</b>
Rentabilidad (%)				16	<b>74</b>

Fuente: CORPOICA, Socioeconomía. C.I-Obonuco

Europa y Asia llegando hasta Japón (French *et al*, 1994; Goodwing *et al*, 1995; Fry y Goodwing, 1995).

En Colombia, el primer reporte de esta enfermedad fue presentado por el agricultor Pedro Pardo (1883), quien informó que en Chipaque, Cundinamarca, se observó ataque de gota en 1861 en tubérculos de la variedad Tuquerreña, en 1864 vio por primera vez un campo de papa “criolla” (Solanum phureja) destruida por la enfermedad antes de la floración y que, en 1865 la enfermedad se difundió en forma devastadora en toda Cundinamarca, con excepción de la zona de Usme. Por su parte el Director del Instituto Nacional de Agricultura Juan de Dios Carrasquilla (1883), elaboró un informe científico detallado sobre el estado general de los cultivos de papa en esa época. Ambos informes coinciden en que durante los dos semestres de 1865, P. infestans prácticamente eliminó las variedades de papa “criolla” y en que, el daño fue parcial en las “papas de año” (S. tuberosum ssp. andigena) (Lujan, 1996).

### **3.3 POSICIÓN TAXONÓMICA DE Phytophthora infestans**

Phytophthora infestans (Mont.) de Bary, pertenece al Phylum Oomycota, los llamados “ mohos acuáticos” (Erwin y Ribeiro, 1996).

Dick (1990), citado por Erwin y Ribeiro, ubica al género de *Phytophthora* dentro de la subclase *Peronosporomycetidae*, orden *Pythiales*, Familia *Pythiaceae*. Sin embargo, las características intrínsecas de los Oomicetes los hacen bastante diferentes de los hongos verdaderos. La mayor parte del ciclo de vida de los Oomicetes es diploíde, mientras que en los hongos es haploide, su pared celular esta compuesta de  $\beta$ -glucanos y celulosa, y no de quitina, tampoco sintetizan esteroides pero los requieren de una fuente externa para la esporulación, tienen reproducción sexual por la unión de gametangios y formación de zoosporas asexuales dentro de esporangios (Deacon, 1990; Erwin y Ribeiro, 1996).

Además, Deacon (1990) informa que los Oomicetos sintetizan la lisina mediante el DAP (ácido diaminopimélico) mientras el resto de hongos lo hacen por la vía de AAA (ácido alfa-aminoadípico), lo que sugiere una divergencia evolutiva entre hongos y Oomicetes. Análisis filogenéticos de ADN ribosómico, claramente relacionaron a los Oomicetes con las algas pardas más que con los hongos (Judelson, 1996).

Evolutivamente hablando, los Oomicetos derivan de un ancestro que poseía zoosporas con dos flagelos de tamaño desigual (heterokonte) y/o cloroplastos con envoltura de retículo endoplasmático (Erwin y Ribeiro, 1996).

Actualmente Oomycota ya no se clasifica en el reino Fungi, se los considera Protistas, dentro del reino Chromista (Paquin et al 1995; Chesnick et al 1996; Erwin y Ribeiro,1996).

La clasificación de P. infestans es la siguiente según Dick, 1995 :

REINO	Chromista
DIVISION	Heterokonta
CLASE	Heteromicotina
PHYLUM	Oomycota
SUBCLASE	Peronosporomycetidae
ORDEN	Pythiales
FAMILIA	Pythiaceae
GENERO	<u>Phytophthora</u>
ESPECIE	<u>infestans</u>

Así, aunque no es considerado como un hongo, la terminología utilizada para su descripción sigue siendo la misma y los micólogos por las similitudes con los hongos los estudian como tal ( Erwin y Ribeiro, 1996).

### **3.4 REPRODUCCIÓN ASEXUAL DE Phytophthora infestans**

Entre tres y diez días después de la infección, según las condiciones ambientales, los esporangióforos emergen a través de los estomas en la superficie de las hojas. Los estomas son más frecuentes en el envés que en el haz de la hoja. Esto explica porque la esporulación es más abundante en esta cara. Los zoosporangios (también llamados esporangios o conidias) se desarrollan en el extremo de los esporangióforos. Cuando están maduros, los zoosporangios se desprenden fácilmente y son diseminados por el viento. La mayoría de las esporas caen a pocos metros; sin embargo, pueden llegar a recorrer distancias de más de 30 Km (Henfling, 1987).

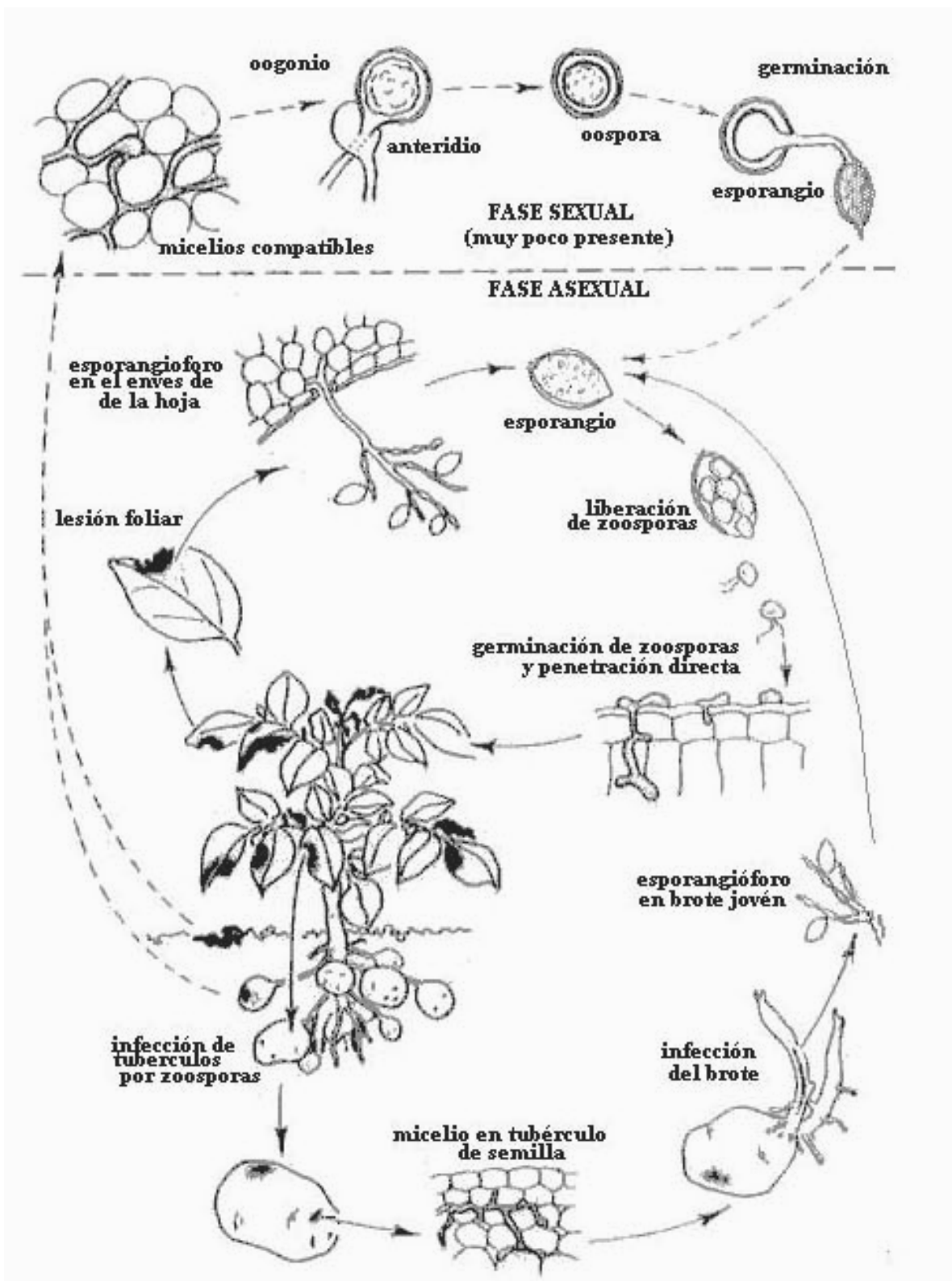
Los zoosporangios son hialinos, tiene forma de limón, de pared delgada. Al formarse un zoosporangio en la punta de un esporangióforo, éste se hincha ligeramente, empuja el esporangio a un costado y continúa creciendo. El esporangióforo se caracteriza por la presencia sucesiva de hinchamientos en los puntos en donde se formaron los esporangios, los cuales pueden germinar emitiendo un tubo germinativo, pero con mayor frecuencia se diferencian produciendo alrededor de 8 zoosporas biflageladas que nadan libremente en agua y luego se enquistan sobre los tejidos del hospedero. Las zoosporas enquistadas germinan emitiendo un tubo, el cual puede penetrar la hoja por los estomas, generalmente formando un apresorio, de tal manera que la hifa de penetración ingresa

directamente a través de la cutícula; una vez dentro de la planta, el micelio que es cenocítico, se desarrolla intra e intercelularmente, proyectando haustorios dentro de las células (Urquijo; Rodríguez y Santoalla, 1961; Agrios, 1996).

El tipo de germinación puede ser afectado por la temperatura, así entre 3 a 10°C, cerca del 80% de los zoosporangios germinan indirectamente; a temperaturas de 20°C o mayores, la germinación es principalmente de tipo directa (Turkensteen, 1990).

Según Brassier (1992), dentro del género *Phytophthora* existen especies tanto homotálicas como heterotálicas; en *P. infestans* se han identificado 2 tipos de apareamiento denominados A1 y A2. Paralelamente al heterotalismo convencional, un mismo talo puede presentar ambos tipos de estructuras sexuales, siendo autoincompatibles hasta que una inducción hormonal dirigida por otro talo, rompa esta condición de autoincompatibilidad; este fenómeno ha sido denominado heterotalismo hormonal.

Cuando los micelios de diferentes tipos de apareamiento (A1 y A2) crecen juntos, uno de ellos puede formar células masculinas (anteridios) y el otro células femeninas (oogonios). El oogonio crece a través del anteridio, permitiendo la fertilización. El oogonio fertilizado se convierte en una



**Figura 1.** Ciclo de vida de *Phytophthora infestans* (González, 1976).

“espora de descanso” de paredes gruesas (oospora). Las oosporas, a diferencia de los zoosporangios y las zoosporas, pueden resistir condiciones desfavorables, tales como sequías y bajas temperaturas (Henfling, 1987).

Las oosporas de P. infestans germinan mediante la formación de un esporangio que es similar a los descritos en la reproducción asexual.

Después de producirse la infección de un hospedero, las zoosporas resultantes pueden iniciar un nuevo ciclo de vida (Henfling, 1987).

### **3.5 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VARIABILIDAD DE Phytophthora infestans**

Según Leach y Rich (1969), existen dos mecanismos diferentes capaces de inducir nuevas razas de P. infestans en ausencia del estado sexual. El primer mecanismo se da cuando un nuevo gen patogénico se expresa al crecer en combinación de dos razas del patógeno, ninguna de las cuales contiene el nuevo gen expresado. El segundo es la recombinación de genes de dos razas en un núcleo, de esta forma una nueva raza será aquella que contenga los genes de ambas razas originales.

Cuando dos genes se expresan en mezclas de razas, donde estos genes no se presentan en aislamientos monozoospóricos de las razas originales, el mecanismo que puede dirigir tal variabilidad debe ser otro diferente al de la mutación (Leach y Rich,1969); los citoplasmas de ambas se entremezclan, y la presencia de un inhibidor es superada. De esta forma, se permite la expresión de ambos genes, donde los componentes citoplasmáticos de las dos razas pueden combinarse de tal forma que producen una nueva forma alimenticia e.g. aminoácido, la cual incrementaría la patogenicidad a plantas, clasificadas previamente como resistentes.

La infección de plantas con genes R, por combinaciones de razas en las cuales el gen de complementariedad estuvo ausente, fue atribuido a una herencia citoplasmática (Leach y Rich,1969).

Para el segundo mecanismo, donde dos razas con diferentes genes de complementariedad p se han combinado para formar una nueva raza con los genes característicos de las dos razas originales, puede ser atribuido a la presencia de heterocariosis y ciclo parasexual en el patógeno; así la presencia de diferentes genotipos en un solo esporangio aislado a partir de combinaciones de razas indican la operatividad de este mecanismo. Además este hecho indica que Más de un núcleo puede migrar al esporangio durante el tiempo de su migración (Leach y Rich,1969). Bajo

las anteriores condiciones la presencia de nuevas razas en P. infestans se debe a la heterocariosis y parasexualidad y no a la adaptación de este.

Recientemente se ha planteado que la aparición de las razas P. infestans puede estar influenciada por la presencia de elementos extranucleares transponibles, capaces de incorporarse al genoma de las células (Goodwin, Sujkowski y Fry, 1995). Igualmente, la exposición a productos químicos puede favorecer la ocurrencia de mutaciones en los loci de patogenicidad generando la expresión de nuevos factores de virulencia en P. infestans (Le Grand-Pernot, 1988).

La fusión de zoosporas ha sido reportada para P. infestans, convirtiéndose en una posible vía para presentarse una síntesis de heterocarión en condiciones de campo, donde zoosporas de genotipos diferentes pueden encontrarse en la misma gota de agua. Otro mecanismo alternativo de recombinación en P. infestans, es la inducción de autofertilización por la presencia de tipos de apareamiento A2 de otras especies de P. infestans (Shaw, 1983).

Las propiedades citogenéticas se constituyen en otro factor determinante en la diversidad genética de un patógeno; estudios citogenéticos, citofotométricos y genéticos han llegado a establecer que las especies pertenecientes al género *Phytophthora* presentan fase somática diploide

con meiosis gametangial (Brasier y Sansome, 1975; Shattock, Tooley y Fry, 1996). Aislamientos Mexicanos y Brasileños de P. infestans examinados citológicamente mostraron ser diploides, entre tanto aislamientos Británicos y Norte Americanos resultaron ser tetraploides, se sugiere que éstos aislamientos tetraploides estarían más bien adaptados a las condiciones climáticas de los países templados y que la poliploidia sería una condición prevaleciente en estos países (Sansome, 1977; Tooley y Therrien, 1987).

La mayor parte de la variación y producción de nuevas razas provienen de la recombinación genética, cuyos caracteres dependen en su origen de la aparición de mutaciones (Brauce, 1980).

### **3.6 SINTOMATOLOGÍA Y DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD**

La espora precisa de unas condiciones de temperatura y humedad concretas. Cuando estas se dan, la espora emite un tubo germinativo, penetrando en los tejidos del huésped a través de los estomas, heridas, lenticelos o incluso perforando la epidermis . A partir de este momento si se encuentra en un medio adecuado, el micelio progresa, se ramifica e invade las células o los espacios intercelulares, alimentándose a expensas de su hospedero. Al principio en la fase de incubación no se aprecian

afecciones externas, pero a medida que esta avanza, aparecen estas (Gonstincan, 1998).

El tipo de lesión en hojas varía con la temperatura, humedad, intensidad lumínica y variedad del hospedante. Los síntomas iniciales típicos se presentan como manchas pequeñas de color verde claro a verde oscuro, de forma irregular. Bajo condiciones ambientales favorables, las lesiones progresan, convirtiéndose en lesiones necróticas grandes de color castaño a negro purpúreo, que pueden causar la muerte de los folíolos y avanzar por los pecíolos hacia el tallo, finalmente la enfermedad puede causar la muerte de la planta afectada (Agrios, 1996).

Frecuentemente se encuentra presente un halo de color verde claro amarillento en la parte externa de la zona necrótica de la hoja; bajo condiciones favorables de humedad se forma un vello (mildiú) constituido por esporangios y esporangióforos en el borde de las lesiones, especialmente en la cara inferior de las hojas (Agrios, 1996).

En variedades susceptibles, la parte externa de los tubérculos afectados presenta áreas irregulares ligeramente hundidas, donde la corteza toma una coloración castaño caoba o rojiza. Dentro del tubérculo, extendiéndose aproximadamente hasta una profundidad de 15 mm, se presenta una pudrición granular seca de color canela castaño (Agrios, 1996).

El desarrollo de epidemias de gota depende en gran parte del efecto que tiene la humedad y la temperatura sobre las distintas etapas del ciclo de vida del patógeno. La esporulación de este es favorecida por una humedad relativa alta (100%), y temperaturas comprendidas entre 10 y 22°C. Los esporangios pierden su viabilidad al cabo de 3 a 6 horas a menos de 80% de humedad relativa. La germinación de los esporangios se produce solo cuando hay rocío o una película de agua libre sobre las hojas de las plantas y a un rango de temperatura comprendido entre 18 y 25°C, concluyendo a la media hora o dos como máximo (Agrios, 1996).

Una vez los esporangios han germinado se requiere un periodo de 2 a 2.5 horas con temperaturas de 15 a 25°C, para que se produzca la penetración de los tubos germinales en los tejidos del hospedero (Agrios, 1996).

El micelio del patógeno se desarrolla con mayor rapidez dentro de un intervalo de temperatura de 17 a 21°C, el cual es también óptimo para que éste pueda esporular. Las temperaturas mayores de 30°C inhiben el desarrollo de Phytophthora infestans en el campo pero no lo destruyen, de ahí que pueda esporular de nuevo cuando la temperatura y humedad sean favorables (Agrios, 1996).

### **3.7 RELACIÓN ALTITUDINAL CON LA PRESENCIA DE Phytophthora infestans**

Sobre este aspecto han sido pocos los estudios que se han realizado, Riviera-Peña (1995), en el valle y las pendientes del Volcán nevado de Toluca (México) encontró que la infección de Phytophthora infestans sobre solanáceas silvestres no se presentó por encima de los 3500 m.s.n.m., a pesar de la presencia de hospederos del patógeno a los cuales afecta a menores altitudes; la razón que propone el autor sobre este hecho, es que por encima de tal altura, las bajas temperaturas inhiben el desarrollo del mismo.

Patiño *et al* (1997), obtuvieron tres aislamientos procedentes de tres pisos térmicos (1450, 2250 y 3000 m.s.n.m.), y de diferentes hospederos (S. muricatum, S. tuberosum y Lycopersicum esculentum), en el Departamento de Antioquia. Estos aislamientos fueron inoculados en plantas de cinco géneros diferentes (S. muricatum, S. tuberosum, Lycopersicum esculentum, S. nigrum, Capsicum pubescens, Cyphomandra betacea y Petunia hybrida). Como resultado de su investigación, los autores encontraron que el aislamiento de Phytophthora infestans procedente de alturas más bajas (1450 m.s.n.m.) tiende a ser más compatible, afectando y reconociendo un mayor número de especies como posibles hospederos que los aislamientos de las zonas más altas.

### **3.8 MECANISMOS DE VARIACIÓN GENÉTICA EN P. infestans**

Además de los mecanismos típicos de variación genética presentes en estos fitopatógenos, en P. infestans parecen obrar otros mecanismos responsables de tal variación (Galingo y Gallegly, 1960).

La mutación es el principal mecanismo de variación genética en el género *Phytophthora*. En P. infestans todos los miembros de un linaje clonal descienden de un grupo individual, siendo el más común alrededor del mundo el US - 1, el cual corresponde al tipo de apareamiento A1 y al parecer se derivó de un ancestro Mexicano. Los análisis de aislamientos US - 1 han detectado algunas mutaciones en el ADN nuclear y mitocondrial, dichas variantes son idénticas al genotipo más común de su linaje, excepto por una o dos aloenzimas o cambios en el DNA "Fingerprinting" (Cuadro 2). Las mutaciones pueden ocurrir además por presión de fungicidas sobre las poblaciones del patógeno. Un ejemplo claro de ello, es el ancestro clonal de la línea US-1, el cual inicialmente se caracterizaba por su extrema susceptibilidad al Metalaxyl, en tanto que los diferentes aislamientos obtenidos posteriormente, han presentado resistencia a dicho ingrediente activo; así mismo se ha atribuido a las mutaciones, el cambio en virulencia observado en diferentes aislamientos del patógeno (Goodwin, 1997).

Otro mecanismo de variación en P. infestans es la recombinación mitótica, Goodwin (1997) atribuye a ésta los cambios de locus heterocigóticos a homocigóticos, lo que implica que caracteres recesivos se expresen en el nuevo individuo homocigoto. Sin embargo dicha variación no ha sido comprobada directamente, debido a la falta de marcadores adecuados.

La recombinación parasexual es otro mecanismo de variación que se presenta muy frecuentemente en las poblaciones de P. infestans; generalmente a dicho fenómeno se le atribuye la mayoría de los cambios presentados en este patógeno (Shaw, 1983; Goodwin, 1997).

La introgresión por hibridación con otras especies de *Phytophthora* es otro de los mecanismos observados en P. infestans; híbridos interespecíficos entre P. infestans y P. mirabilis han sido obtenidos en laboratorio; Clinton (1911) citado por Shaw (1983) reporta la presencia de oosporas en apareamientos de P. infestans y P. phaseoli, sosteniendo que se originaron a partir de la hibridación de estas dos especies.

Finalmente, Sujkowski y Fry (1995) plantean la existencia de razas de P. infestans con elementos extranucleares transponibles capaces de incorporarse al genoma del patógeno.

## CUADRO 2

### DEFINICION DE ALGUNOS LINAJES CLONALES PARA P. infestans

Genotipo	Tipo de Apareamiento	Genotipo isoenzimático		Patrón de DNA Fingerprint*.
		GPI	PEP	
US - 1	A1	86/100	92/100	011101011001101000110011
US - 6	A1	100/100	92/100	1011111001001100010110011
BC - 3	A2	100/100	100/100	1010001001001100010110011
EC - 1	A1	90/100	96/100	1111101001001101000111011
US -7***	A2	100/111	100/100	1001100001001101010110011
US -8**	A2	00/111/122	100/100	1001100001001101000110111

Fuente : Forbes *et al*, 1997; Goodwin, sujkowski & fry, 1995.

\*(1) : Presencia, (0) : Ausencia de banda hibrida con RG57 (Lectura de izquierda a derecha)

\*\* Linaje clonal de primera migración del fitopatógeno fuera de su centro de origen.

\*\*\* Nuevos linajes clónales descubiertos en 1992 en EEUU.

### **3.9 RAZAS FISIOLÓGICAS DE Phytophthora infestans**

Shick en (1932) fue quien primero informó de la presencia de formas fisiológicas de Phytophthora infestans. Estas se caracterizaban por presentar patogenicidad diferencial hacia diversos hospederos; los primeros trabajos realizados se hicieron con una forma fisiológica procedente de Strekenthin (Alemania), la cual infectaba todas las progenies de las variedades W (variedades formadas por la hibridación entre especies silvestres Americanas y variedades domesticadas Europeas), las cuales habían manifestado anteriormente resistencia al patógeno. A partir de dicho descubrimiento comenzaron una serie de investigaciones, que concluyeron con la confirmación de la especialización biológica de Phytophthora infestans. Hoy día se conocen 11 genes mayores de resistencia, que generan una reacción de hipersensibilidad con las razas del patógeno que portan los respectivos genes de virulencia (Henfling, 1987).

El sistema de caracterización de las razas del patógeno e identificación de genes de resistencia en el hospedero, fue propuesto por Black (1953) en Escocia. En el sistema, fueron reconocidos 4 genes para resistencia en un material mejorado derivado de Solanum demisum Lindl. Cada gen es heredado independientemente y de una forma monogénica-dominante. Los genes de resistencia fueron designados como R1, R2, R3 y R4,

incluyéndose los recesivos; se obtuvieron 16 genotipos diferentes al usarlos como hospederos diferenciales; los aislamientos presentaron un patrón de relación patogénica sobre los 16 genotipos del hospedero. Los aislamientos que solo fueron patogénicos a plantas sin genes R, se designaron como raza 0. Aquellos aislamientos que atacaron plantas con genes recesivos y plantas que solo poseían el gen R1 fueron designados como raza 1, así mismo se procedió con los demás. Algunos aislamientos se identificaron como una combinación de razas con la habilidad de atacar no solo plantas con genes recesivos y plantas con un solo gen R, sino también plantas con genes R en combinación, por ejemplo, la raza 1,2 fue patogénica sobre plantas recesivas R1, R2 y R1R2 (Gallegly y Galindo, 1958).

Posteriormente los genes R5 - R9, fueron derivados de Solanum demissum, surgiendo nuevas razas, todas ellas con capacidad de vencer la hipersensibilidad inducida por al menos uno de los nueve genes (Malcolmson y Black, 1966).

Con los once diferenciales actualmente conocidos y el tipo sin presencia de genes mayores de resistencia, potencialmente se tendrían  $2^{12} = 4096$  posibles razas de Phytophthora infestans, lo que explica la razón por la cual los programas de mejoramiento en papa y tomate tendientes a la obtención de variedades resistentes a este patógeno, se están

encaminando a la obtención de resistencia horizontal al patógeno (de genes menores, poligénica o herencia cuantitativa) (Henfling, 1987).

Para determinar esto, se utiliza una nomenclatura octal como método eficiente para resumir la información obtenida de las interacciones entre cada uno de los aislamientos con las plantas diferenciales (Black, *et al*, 1953).

Para la implementación de esta nomenclatura, los diferenciales se agruparan de tres (3) y a cada grupo le corresponderá un dígito octal. Los once genes de resistencia conforman cuatro (4) dígitos octales. El primer dígito sobre la izquierda contiene la información de los diferenciales R1, R2, R3; el segundo dígito, R4, R5, R6; el tercer dígito, R7, R8, R9; el cuarto dígito, R10 y R11 dejando abierto el espacio para un posible nuevo gen de resistencia (Black, *et al*, 1953).

11 genes diferenciales	4 dígitos octales
A : R1 R2 R3	
B : R4 R5 R6	
C : R7 R8 R9	
D : R10 R11 alfa	

Todas las respuestas de los diferenciales se enumeran de izquierda a

derecha, utilizándose un cero (0) para denotar una interacción hipersensible y un uno (1) para denotar una interacción compatible (Black, *et al*, 1953).

Esta lista de ceros y unos se transformará en un número octal, tomando cada grupo de tres diferenciales y convirtiéndolo en su equivalente octal de la siguiente manera :

0 = Hipersensibilidad	000 = 0
1 = Compatibilidad	001 = 1
	010 = 2
	011 = 3
	100 = 4
	101 = 5
	110 = 6
	111 = 7

El consenso general propone que los genes de resistencia del hospedero tienen una herencia dominante y los genes de virulencia del patógeno son recesivos; aunque algunas inconsistencias se han encontrado, especialmente con los genes R2, R4 y R6 que muestran un exceso de plantas susceptibles con respecto a los esperados en las retrocruzas (Morales y Patiño, 1996); así mismo se encontró un factor genético

adicional que inhibe o estimula la expresión de un gen Rn (desconocido) de una planta que contiene los genes R10 y R4 y de un factor supresor dominante en el gen R1.

### **3.10 ESTUDIOS SOBRE EL CONOCIMIENTO DE RAZAS FISIOLÓGICAS**

#### **EN P. infestans**

La aparición de razas fisiológicas en Phytophthora infestans es un fenómeno que comenzó a observarse en forma paralela a la introducción en la papa cultivada (Solanum tuberosum) de genes-R con resistencia al patógeno derivados de S. Demissum (Black, *et al*, 1953).

Para realizar un estudio sobre razas fisiológicas es necesario comprender dos conceptos básicos que explican este fenómeno de variación en los patógenos, ellos son la compatibilidad y la hipersensibilidad. Se dice que un aislamiento o raza es compatible cuando este no está restringido en su patogenicidad hacia un genotipo del hospedero por la acción de los genes R, en los cuales su acción es superada por los factores de virulencia del aislamiento o raza específica (Turkensteen, 1989).

La hipersensibilidad es debida al efecto de uno o más genes-R mediante los cuales un aislamiento o raza del patógeno es restringido en su

patogenicidad hacia el genotipo del hospedero, tomando como referencia genotipos del hospedero libres de estos genes R (Turkensteen, 1989).

Los tubos de germinación de las esporas, al entrar en variedades altamente resistentes causan la muerte rápidamente de unas cuantas células del hospedero. A veces esto sucede antes de que el tubo entre en contacto con ellas y se supone que entonces algunas sustancias (Fitoalexinas) producidas por la planta como mecanismo de defensa natural que parecen difundirse de las células muertas hacia la primera célula atacada maten al patógeno que acaba de penetrar. Como consecuencia se origina una pequeña necrosis en la hoja, pero como el daño está limitado a unas cuantas células y el patógeno a muerto, la planta no sufre una enfermedad grave (Brauce, 1980).

Muchos de los organismos que incitan las enfermedades están constituidos por varias formas biológicas especializadas, conocidas como biotipos o razas fisiológicas, que difieren en su patogenicidad sobre las diferentes variedades de la misma especie. Por consiguiente la resistencia de las variedades es una expresión tanto del genotipo de la planta como del genotipo del parásito y esta condicionada por factores de predisposición del medio ambiente (Pothlman, 1983).

La forma de herencia de la resistencia a muchas enfermedades específicas

o a los biotipos de las mismas parece estar regida por uno o dos genes principales. La resistencia puede ser dominante o recesiva, aun cuando la reacción dominante es la más común. La resistencia en otras variedades o para otras enfermedades, es más compleja por ser numerosos los genes que afectan la interrelación hospedero-parásito (Pothlman, 1983).

La evolución de las razas fisiológicas en Phytophthora infestans ocurre paralelamente a la introducción continua de los genes-R, es así como en un comienzo dichas razas eran muy simples y con pocos factores de virulencia (Toxopeus, 1956); por otro lado desde un principio la mayor complejidad de razas del patógeno ha sido encontrada en México central, apoyando la hipótesis de que esta región corresponde al centro de origen del patosistema Phytophthora infestans - Solanum tuberosum. Tooley, Sweigard y Fry, (1986), utilizando un set de genotipos diferenciales lograron detectar ocho (8) factores de virulencia específica al evaluar 16 aislamientos procedentes de la región de Toluca en México y 14 aislamientos de los Estados Unidos y Canadá. El número más común de los factores de virulencia específica encontrado en aislamientos de Toluca fue 7, y todos los aislamientos presentaron al menos un factor de virulencia.

En los 14 aislamientos procedentes de Estados Unidos y Canadá, siete no presentaron factores de virulencia y solamente uno tenía cuando mucho

seis. En Sur América y más concretamente en Perú, Tooley, Therrien y Ritch, (1989), evaluaron 33 aislamientos contra diez diferenciales, encontrando que el número promedio de factores de virulencia fue 1, donde solamente 9 aislamientos presentaron más de un factor y el máximo número de factores fue 3.

En estudios recientes sobre la evolución de la patogenicidad (factores de virulencia específica) de Phytophthora infestans, se encontraron entre 77 aislamientos obtenidos de Estados Unidos, Canadá y el Noroeste de México, 8 genotipos clonales con 27 patotipos (razas fisiológicas) diferentes; llegando a la conclusión que la patogenicidad a genes particulares de resistencia eventualmente puede evolucionar en forma rápida dentro de linajes clonales de Phytophthora infestans, donde la mutación es la fuente de toda la nueva variación genética, haciendo también posible que la tasa observada de cambio de un fenotipo dentro de un linaje dependa de las relaciones de dominancia para cada locus (Goodwin, Sujkowski y Fry, 1995).

En Colombia los primeros estudios sobre el reconocimiento de razas fisiológicas de Phytophthora infestans se iniciaron con De Rojas (1953), el cual planteó que debido al frecuente cultivo de variedades de papa muy susceptibles a la gota, solo una raza, la "A", que era la más débil por presentar susceptibilidad solamente con plantas sin genes R, era la que

había existido en la Sabana de Bogota y la Cordillera de los Andes, y que la raza “D” era una raza que había surgido posteriormente a la inclusión en los planes de fitomejoramiento de especies y variedades portadoras de genes de resistencia, proponiendo la existencia de otras razas más virulentas en el macizo andino, donde ocurren espontáneamente especies altamente resistentes a la raza “D”, como Solanum andreanum.

Posteriormente Guzmán (1962), confirmó los hallazgos iniciales hechos por De Rojas (1953), al encontrar que en la Sabana de Bogota y sus valles aledaños eran las razas 0 y 4 las más prevalentes y más comúnmente distribuidas; encontrando además la escasa presencia de la raza 1 y el primer registro de la raza 3,4, la cual fue virulenta para la variedad Diacol sumapas. De igual forma aislamientos del patógeno obtenidos de la variedad de papa criolla (Solanum phureja) correspondieron a la raza 0,4 y aislamientos procedentes de Solanum muricatum dorado y blanco correspondieron a las razas 3.4 y 0.4 respectivamente.

**3.10.1 Reconocimiento de razas fisiológicas en el mundo.** La diversidad racial y complejidad de 23 poblaciones de Phytophthora infestans colectados en diferentes partes del mundo entre 1966 y 1993, fueron examinados por Andrivon (1995). Para ello utilizó índices matemáticos de diversidad fenotípica (índices de Shannon (Hs) e índice de Gleason (Hg) y de factores de virulencia. El autor

encontró la mayor diversidad en la zona central de México ( $H_s = 3.45$ ;  $H_g = 10.82$ ); lo que apoyaría la teoría sobre esta región como el centro de origen del patógeno; la población procedente de Irlanda presentó los menores índices de diversidad ( $H_s = 0.86$ ;  $H_g = 0.91$ ) (Cuadro 3); la complejidad de las razas fisiológicas medida en términos de factores de virulencia varió desde un gen de virulencia en la población Peruana, hasta 7 en algunas poblaciones del patógeno procedentes de Alemania Oriental.

Forbes et-al (1997) estudiando la estructura genética de la población de Phytophthora infestans en Ecuador, encontraron que de un total de 23 patotipos, (razas fisiológicas), tres representaban más del 60% del total de 101 aislamientos colectados entre 1990 - 1992 y de 111 aislamientos de 1993; dichos patotipos se caracterizaron por su alta complejidad, siendo virulentos hasta 8 genes R. El índice de Shannon de las poblaciones estudiadas varió desde 3.97 en la zona de Loja hasta 10.25 en Carchi (Ecuador).

Morales y Patiño (1996) señalan en Antioquia (Colombia) y México central como los lugares con mayor complejidad; seguidos por el Reino Unido, con una complejidad intermedia; Estados Unidos y Canadá y finalmente por la región de los Andes Peruanos, zona que presenta la más baja complejidad hasta ahora encontrada.

Mazo y Patiño (1995) obtuvieron 19 aislamientos del patógeno en 10 zonas

del Departamento de Antioquia (Colombia), encontrándose seis razas fisiológicas diferentes, siendo la raza 1, 2, 3, 4, 7, 10, 11, (7476) la que presento mayor frecuencia (58%). Los genes R5 y R9 no se presentaron en ningún aislamiento (Anexo B).

Montoya y Castillo (1998) obtuvieron 19 patotipos diferentes en 6 zonas del Departamento de Antioquia (Colombia), las razas con mayor frecuencia fueron 7576 (20%), 7476 (17,27%) y 7474 (6,9%), el promedio de factores de virulencia en la población fue de 7,17, el diferencial R5 no fue compatible con ningún aislamiento (Anexo C).

Estos mismos autores señalan la complejidad en factores de virulencia de la población evaluada por ellos, como una de las más altas del mundo (6.6) en comparación con otras zonas como México (5.6), Holanda (4.1), Reino Unido (3.2), USA - Canadá (1.9) y Perú (1.0) (Fry y Spielman, 1991) (Cuadro 10).

Además Gilchrist (2001), de 28 aislamientos de diferentes hospederos del Departamento de Antioquia, obtuvo 18 razas fisiológicas diferentes, siendo la más frecuente la raza 7576 con un 21.42% y a su vez la más compleja, además encontró 14 aislamientos con igual frecuencia (3.57%) pero con diferente patotipo. El promedio de factores de virulencia fue de 7, lo cual indica que la complejidad del patógeno no ha variado en este

Departamento (Anexo D).

### CUADRO 3

#### DIVERSIDAD DE RAZAS EN POBLACIONES DE Phytophthora infestans

Origen de la población	Año	Indice de Shannon (Hs)	Indice de Gleason (Hg)
México	1985/6	3.45	10.82
Irlanda	1981	0.86	0.91
Perú	1984/5	0.99-1.42	0.74-1.44
Alemania Oriental	1981/5	0.64-1.89	0.33-2.38

Fuente: Andrivon, 1995.

Indice de Shannon =  $\sum_j (p_j \cdot \ln p_j)$   $j = 1 \dots N_p$

Indice de Gleason =  $(N_p - 1) / \ln N_i$

$N_p$  = Número de razas idénticas.

$P_j$  = Frecuencia de cada raza.

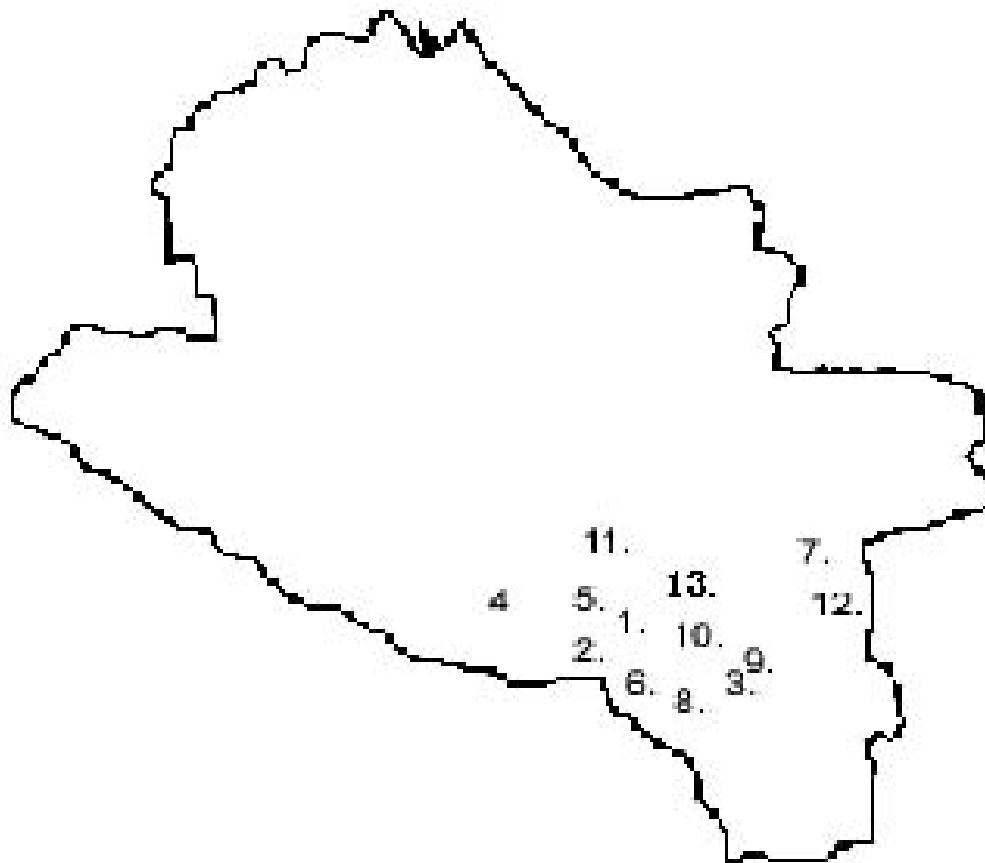
$N_i$  = Número de aislamientos de cada muestra.

## **4. METODOLOGIA**

La investigación desarrollada en este trabajo fue de tipo cuantitativa descriptiva (Pardo *et al*, 1998).

### **4.1 LOCALIZACION**

El presente trabajo de investigación se llevo a cabo en el Centro de Investigación Obonuco de Corpoica, localizado a una altura de 2710 m.s.n.m., con una precipitación anual de 770 mm y temperatura de 13°C, promedio durante todo el año. Los aislamientos con los que se trabajo, fueron colectados previamente en los meses entre Marzo de 1999 a Febrero del 2000, por CORPOICA – Universidad de Nariño, de 13 municipios del Departamento de Nariño correspondientes a las zonas de mayor producción de papa, todos los aislamientos presentan diferencias en su rango altitudinal como se indica en el mapa de localización geográfica (Figura 2), sus datos de colección se indican en el Cuadro 5, además también se reporta un aislamiento de un hospedero de tomate, el cual fue incluido en esta investigación.



**Figura 2.** Mapa de localización geográfica de las zonas de colección de P. infestans en el Departamento de Nariño.

1. Aldana	2800 – 3130	m.s.n.m.
2. Carlosama	3000	m.s.n.m.
3. Córdoba	2650	m.s.n.m.
4. Cumbal	3150	m.s.n.m.
5. Guachucal	3000 – 3100	m.s.n.m.
6. Ipiales	2800 – 2900	m.s.n.m.
7. Pasto	2540 – 2835	m.s.n.m.
8. Potosí	3000 – 3080	m.s.n.m.
9. Puerres	2750	m.s.n.m.
10. Pupiales	3000 – 3080	m.s.n.m.
11. Tuquerres	3060 – 3160	m.s.n.m.
12. El Encano	2760	m.s.n.m.
13. Gualmatan	2670 – 2750	m.s.n.m.

#### **CUADRO 4**

#### **DATOS MULTIANUALES DE TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA**

#### **DE ESTACIONES METEOROLOGICAS IDEAM – 2001.**

<b>ESTACION</b>	<b>MUNICIPIO</b>	<b>T° ANUAL</b>	<b>H.R. ANUAL %</b>
Obonuco	Pasto	13.1	77
Monopamba	Puerres	16.6	90
El paraíso	Tuquerres	10.8	85
Apto San Luis	Ipiales	11	83

Municipios como Aldana, Guachucal, Gualmatan, Ipiales, Pasto, Potosí, Pupiales y Tuquerres, presentaron diferentes rangos altitudinales, esto se debe a que en estos municipios se recolectaron muestras en diferentes veredas y a diferentes pisos altitudinales.

La temperatura y humedad relativa de cuatro estaciones localizadas en diferentes municipios del Departamento de Nariño se registran en el Cuadro 4.

Los aislamientos colectados se registran en el cuadro 5, donde se indica el número de identificación de los aislamientos con que se trabajó, a la vez se presentan datos como: municipio, vereda, altura sobre el nivel del mar y la variedad de la cual fue colectada. También un aislamiento que fue colectado de tomate de árbol (Lycopersicum esculentum), al cual también se le realizó el estudio.

## **4.2 METODOS**

**4.2.1 Siembra de los diferenciales.** En la casa malla del Centro de Investigación Obonuco de Corpoica, se sembraron los clones diferenciales de papa, proporcionados por la Dra. Sonia Jaramillo, profesora de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, obtenidos de semillas

cultivadas, que presentan los siguientes genes de resistencia al patógeno :

Alfa	(R0)	800991	(R6)
800986	(R1)	800992	(R7)
800987	(R2)	800993	(R8)
800988	(R3)	800994	(R9)
800989	(R4)	800995	(R10)
800890	(R5)	800996	(R11)

Antes de la siembra de los clones, se realizó una preparación previa de la tierra con fertilizante 10-30-10 y se aplicó furadan. También se aplicó sistenim en la casa malla, para realizar un control de áfidos e insectos. En eras con áreas de 3,84 m por 1,30 m, se sembraron las semillas de los 11 clones diferenciales y la variedad Tuquerreña, en 6 surcos por era y con no más de 4 semillas por surco, a una profundidad de 5 cm y dejando espacios de 20 cm entre siembra y siembra (Figura 4), en cada surco se sembraba un número no mayor a 4 semillas.

Estos clones diferenciales, se sembraron en dos cuartos de la casa malla (Figura 3).

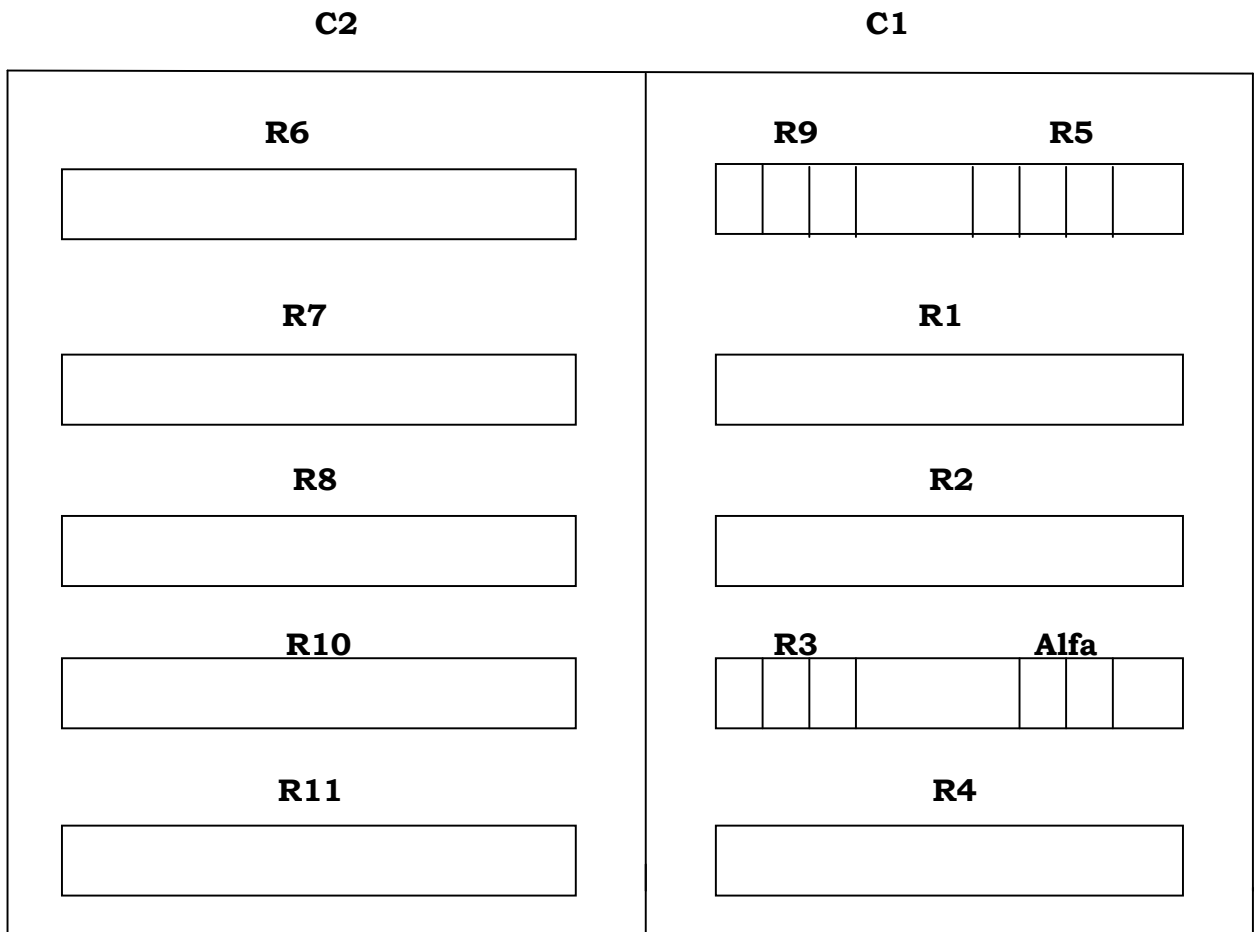
Después de 30 a 50 días de la siembra de los diferenciales, estos ya se encontraban listos para su utilización (Figura 5), el riego se realizó cada tres días y no se realizó ningún control con funguicidas.

**CUADRO 5**

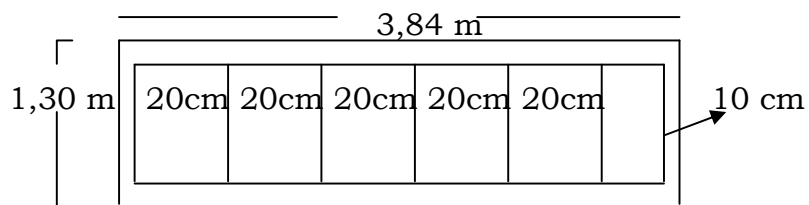
**CUADRO DE COLECCION DE AISLAMIENTOS *Phytophthora infestans*  
EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO**

<b>Aislamiento</b>	<b>Municipio</b>	<b>Vereda</b>	<b>a.s.n.m.</b>	<b>Variedad</b>
<b>N0299</b>	Pasto	Upayaco	2750	Parda
<b>N1399</b>	Pasto	La Victoria	2700	Ica
<b>N1599</b>	Pasto	Santa Bárbara Centro	2650	Parda
<b>N1999</b>	Cumbal	Nazate	3150	Parda
<b>N2699</b>	Tuquerres	Tutagcha	3100	Sabanera
<b>N2799</b>	Potosí	San Marcos	2950	Sabanera
<b>N3299</b>	Potosí	San Marcos	2950	San Pedro
<b>N4599</b>	Ipiales	Cutuaquer alto	2850	Sabanera
<b>N4899</b>	Guachucal	Arbela	3000	Parda
<b>N6399</b>	Córdoba	Chair	2650	Sabanera
<b>N6899</b>	Potosí	4 Esquinas	2900	Capiro
<b>N7599</b>	Puerres	El Llano	2750	Parda
<b>N7699</b>	Tuquerres	Tutagcha	3060	Parda
<b>N8799</b>	Ipiales	Cutuaquer bajo	2800	Capiro
<b>N9299</b>	Aldana	Chorrillo	3130	Parda
<b>N9399</b>	Aldana	Chitaira	3070	Parda
<b>N9599</b>	Aldana	Chitaira	3040	Uva
<b>N9899</b>	Pupiales	El Común	3040	Ica
<b>N10099</b>	Tuquerres	Chanarro Alto	3160	Parda
<b>N10499</b>	Guachucal	La Merced	3100	Ica
<b>N10599</b>	Guachucal	Arbela	3000	Ica
<b>N10899</b>	Carlosama	Macas	3000	Parda
<b>N11099</b>	Pasto	Obonuco	2835	Parda
<b>N11199</b>	Gualmatan	Cofradía	2670	San Pedro
<b>N11399</b>	Pasto	Pasto	2540	Criolla
<b>N11499</b>	Gualmatan	Cofradía	2750	Única
<b>N12099</b>	Aldana	Chaquilulo	2800	Parda
<b>N12699</b>	Pupiales	Quitiaquez	3000	Parda
<b>N12799</b>	Ipiales	Tusandala	2900	Morasurco
<b>N13300</b>	El Encano	El Encano	2760	Ica
<b>N13400</b>	El Encano	El Encano	2760	Criolla
<b>Tomate</b>	Pasto		2600	

**Figura 3.** Siembra de las variedades diferenciales en la casa malla del centro de investigación Obonuco.



**Figura 4.** Distancias de siembra por cada era



Durante el desarrollo de los diferenciales se colocaron trampas con feromonas para monitorear la presencia de Tecia solanivora (Polilla de la papa). A la vez se realizaron podas en los diferenciales, para atrasar el tiempo de floración de estos y en algunos casos se realizaron nuevas siembras.

**4.2.2 Purificación y conservación de los aislamientos.** Las muestras de aislamientos de P. infestans preservadas en el laboratorio, se multiplicaron y purificaron para posteriormente ser utilizadas, primero se realizó una activación en rodajas de papa Tuquerreña, la cual no posee genes mayores de resistencia y posteriormente se inocularon y mantuvieron en agar arveja (Anexo A), su crecimiento se evidenció de 3 a 7 días después de su inoculación y por el color blanquecino del micelio y, de aspecto algodonoso.

Se realizaron siembras repetidas de cada aislamiento y se obtuvo cuatro replicas por cada uno, para tener bastante producción del patógeno en el momento de su utilización.

**4.2.3 Determinación de las razas fisiológicas de** Cada aislamiento (Cuadro 5) fue lavado con 100 ml de agua estéril para la obtención de una concentración de 20.000 esporangios/ml, la cual se ajusto con la ayuda de un hematocitometro, esta suspensión se transfirió a un beaker de 250 ml

para su posterior aplicación en los folíolos de cada uno de los clones diferenciales.

Se utilizó un folíolo del tercio superior de una planta joven de 30 a 50 días después de su emergencia y antes de la floración, todos los folíolos debían tener el mismo tamaño y desarrollo de crecimiento, se lavaron con abundante agua para eliminar algunas impurezas que se presentaran en estos, luego fueron inoculados con 20 $\mu$ l de la suspensión, que se colocaron en el envés de la hoja en el espacio entre la segunda nervadura lateral y la nervadura central a cada lado del folíolo por la gran cantidad de estomas presentes en esta zona por donde podría ser más efectiva la infección (Figura 6) y en 4 folíolos por cada diferencial, posteriormente se localizaron en la tapa de una caja petri.

Luego los folíolos con el tratamiento, localizados en las tapas de las cajas petri, fueron colocados en una caja plástica, con rejilla plástica en su interior y con 500 ml de agua destilada, para así mantener una humedad relativa del 90%, posteriormente fueron cerradas herméticamente. Las cajas tienen unas dimensiones de 31 x 26 x 11 cm (Figura 8), así sucesivamente se realizó para todos los diferenciales, cada uno con su correspondiente caja. (Figura 9) y luego, las cajas con los tratamientos, fueron dejadas a una temperatura promedio controlada y 12 de horas de luz para realizar las lecturas a partir del tercer, cuarto y séptimo día.

Se realizó el control de temperatura, que se hizo dejando el horno prendido a 100°C durante toda la noche, en los días en que se realizó el tratamiento, para mantener una temperatura promedio de 18°C para el desarrollo favorable del patógeno, como se indican en las figuras 9 y 10.

las lecturas se realizaron a partir del tercer, cuarto y séptimo día de la inoculación del patógeno en los folíolos, tomando como reacción positiva o de compatibilidad aquellas lesiones que presentaron esporulación del patógeno en el folíolo e invasión de este en ella (Figura 11), debido a la acción de superar al gen de resistencia de la planta el gen de virulencia del aislamiento.

Se reportó como reacción negativa o de hipersensibilidad aquellos tratamientos que presentaron puntos necróticos en el lugar de inoculación de los esporangios (Figura 12), debido a que la raza del patógeno es restringida en su patogenicidad por el genotipo del hospedero.

Los datos obtenidos se registraron en plantillas (Anexo E) para su control por cada diferencial.



**Figura 5.** 30 a 50 días después de la siembra de las variedades diferenciales en la casa malla



**Figura. 6.** Foliolo con tratamiento

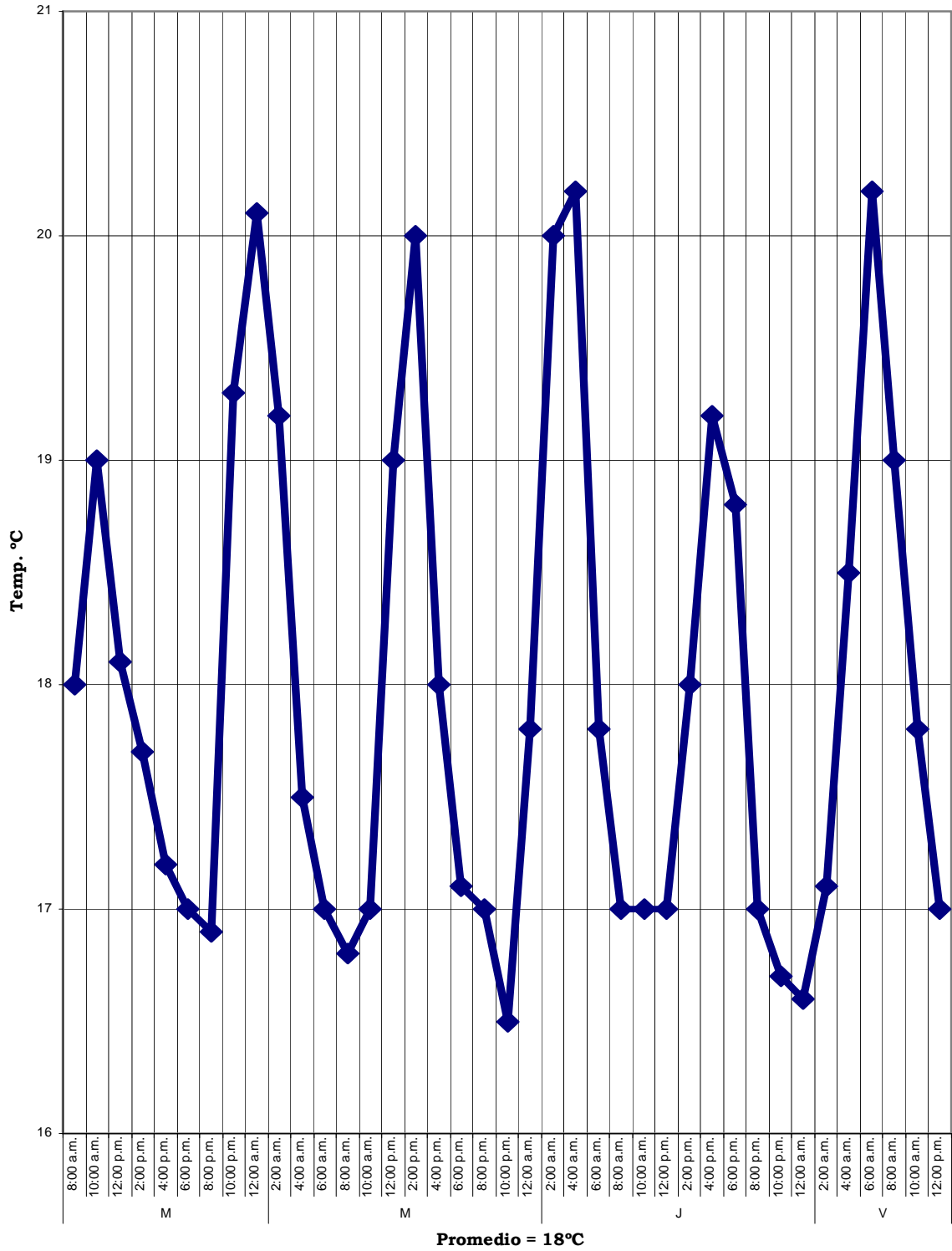


**Figura 7.** Cajas petri en cámara húmeda

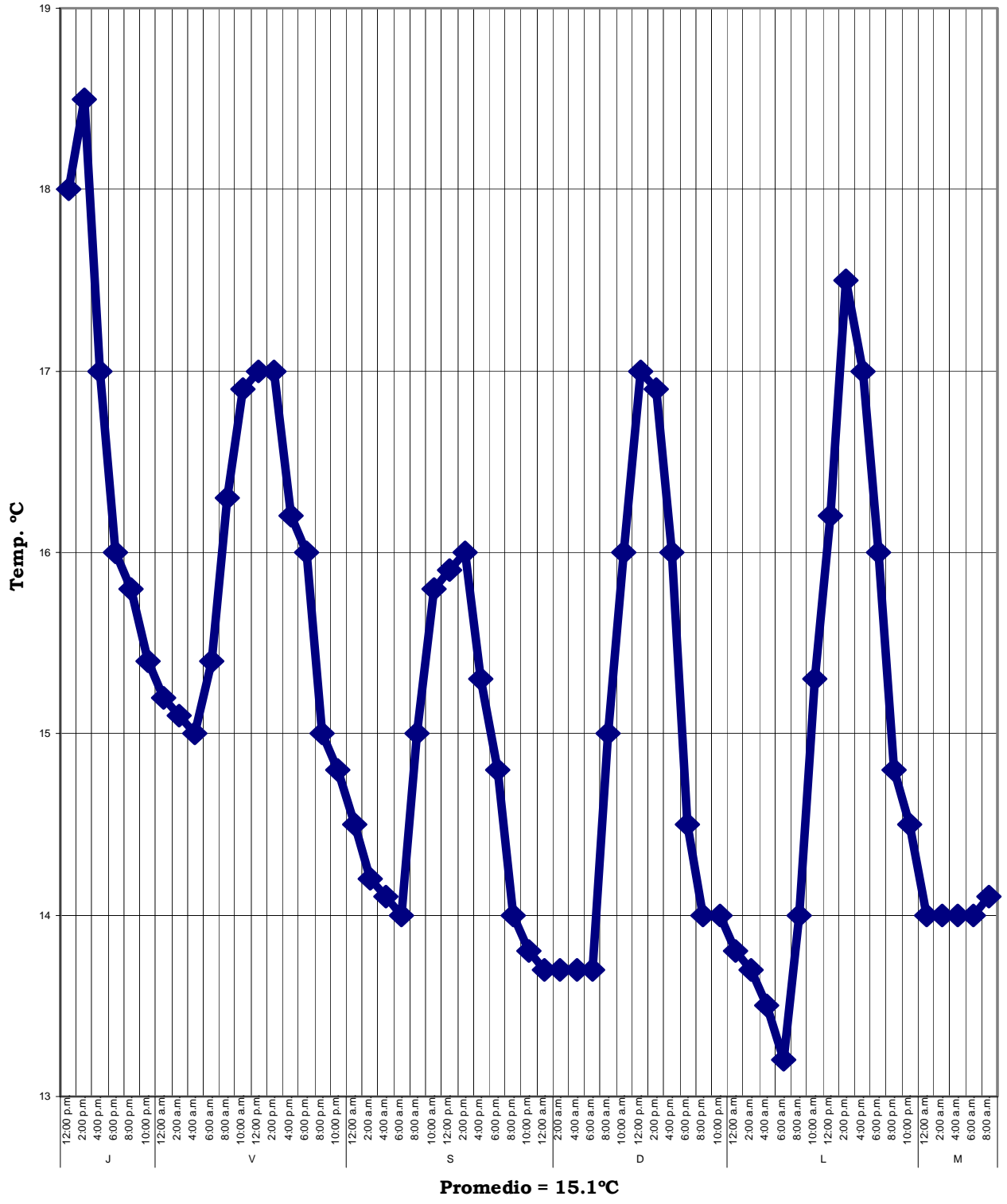


**Figura 8.** Cajas plásticas con los tratamientos para todos los diferenciales

**Figura 9. Temperatura controlada**



**Figura 10. Temperatura sin control**





**Figura 11.** Reacción de compatibilidad



**Figura 12.** Reacción de hipersensibilidad

## 5. RESULTADOS

Se trabajo con 32 aislamientos, obtenidos de hospederos con sintomatología de gota, en 13 municipios y diferentes veredas en un rango altitudinal comprendido entre los 2600 m.s.n.m. a 3160 m.s.n.m. (Cuadro 5).

A nivel de razas fisiológicas se obtuvieron 13 patotipos diferentes, siendo la raza 7776 la más frecuente, con una frecuencia del 50%, le siguen la raza 7756 con un 9.3% de frecuencia, las razas 7752 y 5756 presentaron un 6.25 % de frecuencia cada una respectivamente, las 9 razas siguientes presentan un 3.12 % de frecuencia cada una pero ninguna similitud en sus códigos (Cuadros 6 y 7).

El promedio de factores de virulencia (f.v.) en la población fue de 9,53. 16 aislamientos presentaron 11 f.v., 3 aislamientos con 10 f.v., 6 con 9 f.v., 3 con 8 f.v., 3 con 5 f.v. y 1 con 6 f.v. Esto nos indica que el 59% del universo estudiado presenta 10 o más factores de virulencia, así mismo, más del 87% de la población posee más de 8 f.v. y tan solo el 12% de los aislamientos presentaron 5 o 6 f.v., indicando así un alto rango de virulencia presentada por este patógeno en el Departamento (Cuadro 8).

**CUADRO 6**

**COMPATIBILIDAD DE AISLAMIENTOS DE P. infestans CON  
CULTIVARES DIFERENCIALES DE PAPA**

<b>Aislam.</b>	<b>U</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>R6</b>	<b>R7</b>	<b>R8</b>	<b>R9</b>	<b>R10</b>	<b>R11</b>	<b>Raza fisiológica</b>	<b>Nom. Octal</b>
N0299	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776
N1399	C	C	C	C	C	C	C	C	H	C	H	C	1,2,3,4,5,6,7,9,11	7752
N1599	C	C	H	C	C	C	C	C	H	C	C	C	1,3,4,5,6,7,9,10,11	5756
N1999	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776
N2699	C	H	C	H	C	C	C	C	H	C	C	C	2,4,5,6,7,9,10,11	2756
N2799	C	H	C	C	C	C	C	C	H	C	H	C	2,3,4,5,6,7,9,11	3752
N3299	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776
N4599	C	C	H	H	H	C	H	C	H	C	C	H	1,5,7,9,10	4254
N4899	C	H	C	C	C	C	C	C	H	C	C	C	2,3,4,5,6,7,9,10,11	3756
N6399	C	C	H	C	C	C	C	C	H	C	C	C	1,3,4,5,6,7,9,10,11	5756
N6899	C	H	H	C	C	C	C	C	H	C	C	C	3,4,5,6,7,9,10,11	1756
N7599	C	H	H	C	H	C	H	C	H	C	C	H	3,5,7,9,10	1254
N7699	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776
N8799	C	C	C	C	C	C	C	C	C	H	C	H	1,2,3,4,5,6,7,8,10	7764
N9299	C	H	C	C	C	H	C	H	H	C	C	H	2,3,4,6,9,10	3514
N9399	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776
N9599	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776
N9899	C	C	C	C	C	C	C	C	H	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,9,10,11	7756
N10099	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776
N10499	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776
N10599	C	C	C	C	C	C	C	C	H	C	H	C	1,2,3,4,5,6,7,9,11	7752
N10899	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776
N11099	C	C	C	C	C	C	C	C	H	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,9,10,11	7756
N11199	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776
N11399	C	C	C	C	C	C	C	C	H	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,9,10,11	7756
N11499	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776
N12099	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776
N12699	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776
N12799	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776
N13300	C	C	C	H	H	C	H	C	H	C	H	H	1,2,5,7,9	6250
N13400	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776
Tomate	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	7776

**C- COMPATIBLE**

**H - HIPERSENSIBLE**

### CUADRO 7

#### FRECUENCIA DE LAS RAZAS FILOLÓGICAS DE P. infestans EN LOS AISLAMIENTOS ESTUDIADOS

Raza fisiológica	Número de aislamientos	frecuencia (%)
7776	16	50
7756	3	9,37
7752	2	6,25
5756	2	6,25
7764	1	3,12
6250	1	3,12
4254	1	3,12
3756	1	3,12
3514	1	3,12
3752	1	3,12
2756	1	3,12
1756	1	3,12
1254	1	3,12
<b>13</b>	<b>32</b>	<b>100</b>

### CUADRO 8

#### FRECUENCIA DEL NUMERO DE FACTORES DE VIRULENCIA DE P. infestans

Factores de virulencia	Número de aislamientos	Frecuencia (%)
5	3	9,37
6	1	3,12
8	3	9,37
9	6	18,7
10	3	9,37
11	16	50
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>100</b>

Los diferenciales R5 y R7 solo fueron hipersensibles para el aislamiento N9299, y el diferencial R9 solo fue hipersensible para el aislamiento N8799, presentando altas frecuencias de compatibilidad. El factor R8 fue el menos frecuente, con un 53 % de frecuencia.

Con respecto a los aislamientos colectados en los diversos rangos altitudinales, es de destacar el aumento en el número de factores de virulencia de los aislamientos, conforme aumenta la altura de su procedencia, se determina así que a medida que la altura se incrementa, la virulencia de los aislamientos también, esto puede deberse a que en las zonas muestreadas en este Departamento de alturas superiores a los 3000 m.s.n.m. se tengan practicas de monocultivo y fuertes presiones de funguicidas que obligarían al patógeno a una mejor especialización, además las condiciones ambientales presentes en estas zonas favorecen su desarrollo (Cuadro 9).

La raza 7776, únicamente no se presentó en dos Municipios del Departamento de Nariño (Anexo F), como son Córdoba y Puerres, ambos Municipios son muy cercanos y con diferencias de alturas de apenas 100 m.s.n.m. (2650 y 2750 m.s.n.m. respectivamente), el resto de razas se ubican en diferentes municipios casi al azar a diferencia de la raza 7756 que presenta una marcada presencia en Pupiales y Pasto.

Esto nos lleva a realizar un control del patógeno más estricto de acuerdo a la agresividad de este por zonas, así en las zonas donde no se presento la raza más virulenta el control será menos agresivo que en las zonas donde su presencia es significativa.

**CUADRO 9**  
**PROMEDIO DE FACTORES DE VIRULENCIA DE P. infestans DE**  
**ACUERDO AL RANGO ALTITUDINAL**

<b>Rango altitudinal</b>	<b>Promedio factor de virulencia</b>	<b>Número de aislamientos</b>
2500-2750	9,27	11
2750-3000	9,41	12
3000-3250	10	9

#### **4. DISCUSION**

La determinación de razas fisiológicas de aislamientos de Phytophthora infestans, nos permite identificar la virulencia del patógeno y sus variaciones en diferentes pisos altitudinales del Departamento de Nariño. Los clones diferenciales que poseen genes mayores de resistencia al patógeno producen reacciones de compatibilidad e hipersensibilidad, indicando así a que tipos de genes ataca el patógeno o a que genes de los clones diferenciales, presenta avirulencia.

La amplia zona muestreada en la región, permite contar con una primera aproximación de la población del patógeno en esta importante despensa agrícola de nuestro Departamento.

A nivel de razas fisiológicas se observó una gran complejidad en la población estudiada, de 32 aislamientos se identificaron 13 patotipos diferentes y 9.53 factores de virulencia en promedio, representados significativamente por la raza 7776 presente en un 50% de los 32 aislamientos. A la vez se encontraron así patotipos que poseen desde 11 factores de virulencia hasta patotipos que solo poseían 5. Esto nos

demuestra que existe una gran complejidad y alta virulencia del patógeno en esta zona.

Mazo y Patiño (1995), afirman que la población Antioqueña de P. infestans es una de las más complejas en el mundo, comparadas con diferentes estudios realizados sobre factores de virulencia a nivel mundial. Actualmente Gilchrist (2001), publicó sus resultados sobre determinación de razas encontrando muy poca variación con los trabajos realizados anteriormente. Ahora, según datos que suministra esta investigación, podemos decir que el Departamento de Nariño se convierte en el más complejo en cuanto a factores de virulencia tanto a nivel nacional y mundial (Cuadro 10), Pero esta complejidad esta relacionada con una baja diversidad de razas, observada en la población estudiada tanto en el Departamento de Nariño como en el de Antioquia a través de diversos estudios (Cuadro 11), comparada con los altos índices de diversidad encontrados en México, confirmando así que México es la zona con mayor diversidad de razas a nivel mundial, ya que esta posee los dos talos de reproducción y además por ser considerada como el centro de origen.

Por otro lado, Gilchrist (2001) y Montoya y Castillo (1998) no detectaron el factor de virulencia R5 en ninguno de los aislamientos evaluados, sin embargo en el presente trabajo el factor R5, a excepción del aislamiento N9299, se encontró de manera frecuente.

## CUADRO 10

### FRECUENCIA DE FACTORES DE VIRULENCIA DE VARIAS COLECCIONES DE *P. infestans* EN EL MUNDO

País	Número de aislamientos	Promedio factor de virulencia
Colombia (Nariño) 2001	32	9,53
Colombia (Antioquia) 2001	28	7
Colombia (Antioquia) 1998	29	7,17
Colombia (Antioquia) 1995	19	6,6
México (Valle de Toluca)	16	5,6
Holanda	14	4,1
UK	61	3,2
USA, Canadá	14	1,9
Perú	33	1.0

Fuente : MONTOYA, M. y CASTILLO, J (1998).

## CUADRO 11

### DIVERSIDAD DE RAZAS EN POBLACIONES DE *Phytophthora infestans*

Origen de la población	Indice de Shannon $HS = \sum_j (p_j \cdot \ln p_j) = 1..N_p$	Indice de Gleason $HG = (N_p - 1) / \ln N_i$	Año
Nariño (Colombia)	1.8	3.46	2000/1
Antioquia (Colombia)	2.64	5.1	2000/2
Antioquia (Colombia)	2.05	5.34	1997/8
Antioquia (Colombia)	1.3	1.69	1994/5
Mexico	3.45	10.82	1985/6
Irlanda	0.86	0.91	1981
Perú	0.99; 1.42	0.74; 1.44	1984/5
Alemania Oriental	0.64; 1.86	0.33; 2.38	1981/5

Adaptada de Andrivon, 1995.

P<sub>j</sub> = Frecuencia de las razas

N<sub>p</sub> = Número de razas

N<sub>i</sub> = Número de aislamientos evaluados.

Tales variaciones pueden ser debidas a varias causas : **a.** las diferencias en las zonas de muestreo, **b.** al resultado de una gran dinámica población del patógeno en las zonas de producción de papa en el Departamento de Nariño comparado con el de Antioquia, **c.** dado el alto número de fuentes de presión tanto naturales como artificiales a que se ve sometida la población de P. infestans, y **d.** a procesos migratorios del patógeno desde otras latitudes, trayendo consigo nuevos patotipos. En tal sentido Forbes *et al*, (1997), reporta una hipótesis similar en Ecuador, indicando que el nuevo linaje clonal detectado en esta zona (EC-1) y caracterizado por su complejidad patogénica, es resultado de la introducción de un nuevo genotipo, que ha desplazado la población original (US-1) del patógeno en este país.

La complejidad patogénica en Nariño, debe ser el resultado de complejos procesos genéticos generados por mecanismos de adaptación del patógeno a nuevas situaciones en el hospedante, cambio en las condiciones agroecológicas y a la variación intraclonal de los cultivares de papa como consecuencia de su propia evolución.

El aumento de la complejidad del patógeno con la altitud, es apenas lógico, si se tiene en cuenta que en estas zonas es donde se encuentra la mayor área cultivada con papa y donde es más intensivo su cultivo, además del amplio número de moléculas funguicidas utilizadas para el control de la

gota. Estas situaciones serán entonces importantes agentes de presión sobre las poblaciones del patógeno allí establecidas, lo que se refleja en la gran complejidad de tales poblaciones, las que se ven obligadas a hacer uso de todo su pool genético para sobrevivir.

Los resultados de este trabajo, permitirán establecer políticas de control frente a este patógeno, especialmente en el aspecto referente a la generación de nuevas variedades, las cuales sin lugar a duda, además de las características agronómicas y culinarias deseadas, deben combinar tanto la resistencia de campo a P. infestans, como la resistencia vertical, la cual debe ser obtenida mediante nuevas estrategias que conduzcan a la búsqueda de nuevas fuentes de resistencia, dadas las condiciones de variabilidad y patogenicidad que presenta este patógeno en nuestro medio y a nivel nacional, ya que se encuentra gran diferencia con trabajos realizados en otras regiones.

## CONCLUSIONES

- El estudio de la composición racial de P. infestans en la región, demostró gran complejidad y diversidad patogénica, presentándose 13 razas fisiológicas diferentes y 9.53 factores de virulencia en promedio; algunos aislamientos fueron compatibles hasta con 11 clones diferenciales.
- Más del 70% de la población evaluada presento 9 o más factores de virulencia, siendo las razas 7776 y 7756 las más frecuentes con 50 y 9 % de participación respectivamente.
- La raza 7776 es considerada la más virulenta y la de mayor presencia, se encontró en zonas con alturas superiores a los 2600 m.s.n.m. y una humedad relativa promedio de 83.75% de zonas que presentan casi las mismas características climáticas durante todo el año según datos de estaciones IDEAM.
- El diferencial R8 fue el de menor frecuencia en todos los casos, los diferenciales R5, R7 y R9 a excepción en los aislamientos N8799 y

N9299 fueron compatibles para toda la población, no se presento ningún factor que estuviera presente en todos los aislamientos.

- La complejidad racial en la población estudiada aumento conforme se ascendió en altura, alcanzándose un promedio de 10 factores de virulencia en los aislamientos logrados en el rango 3000 – 3250 m.s.n.m.
- El aislamiento realizado de un hospedero de tomate, presento gran complejidad, comparado con los aislamientos de papa, siendo compatible con los 11 diferenciales.

## **RECOMENDACIONES**

- La capacidad del patógeno para adaptarse a diferentes condiciones ambientales, hace más difícil el control químico y cultural de la enfermedad y revela la necesidad de que se realicen más estudios sobre su estructura genética, tanto para detectar marcadores de virulencia y variaciones en los patotipos, como para detectar migraciones del patógeno y proponer estrategias de control.
- Adoptar medidas culturales que ayuden a evitar la propagación del patógeno, ya que la importación de semillas o el mal control de la enfermedad en la zona de cultivo podría incrementar la aparición de nuevas razas de P. infestans o variantes más virulentas a nuestra región y por su alta capacidad de migración, a otras regiones.
- Desarrollar políticas de control a nivel Nacional para crear técnicas apropiadas para la recolección de muestras en el campo y su respectivo control, además de el desarrollo de nuevas variedades con alta resistencia al patógeno, que actúen de acuerdo a la alta virulencia que se presentan en diferentes zonas de Colombia.

- Realizar estudios de razas fisiológicas en diferentes hospederos de Solanáceas y especies silvestres, para compararlos con los resultados obtenidos en esta investigación y conocer mejor el comportamiento del patógeno en este Departamento, a su vez también realizar estudios sobre marcadores genéticos para determinar el tipo de linaje clonal de los nuevos aislamientos.
- Es preciso implementar nuevas investigaciones que estudien en el campo la capacidad que tienen los aislamientos de un hospedero en particular de afectar en forma natural otros hospederos y que indaguen sobre las relaciones ecológicas que se presentan entre el patógeno y otros hospederos cultivados y silvestres, situación que redundara en la ampliación del conocimiento de la epidemiología de la enfermedad en nuestro medio.

## **BIBLIOGRAFIA**

ALVARADO, L.F. 1990. Problemática de la producción de semilla de papa en Colombia. FEDEPAPA. Seminario semillas y actualización tecnológica del cultivo de la papa. Oriente Antioqueño. 71: 60-65.

ANDRIVON, D. 1995. Comparison of race structure and diversity in populations of Phytophthora infestans. 1966-1993. Phytophthora infestans 150p. 71 – 76. Dowley I. J; Bannon, E; Cooke, L. R.; Keane, T. and O Sullivan. Ireland.

AGRIOS, G. N. Fitopatología. 2 ed. Mexico. Limusa 1996. P303-323.

BLACK, W. *et al.* 1953. A proposal for an international nomenclature of races of Phytophthora infestans and genes controlling immunity in Solanum demisum derivales. Euphytica. Vol. 2. No 3: 173-179.

BRASIER, C.M. 1992. Evolutionary biology of Phytophthora. Part I :Genetic system, sexuality and the generation of variation. Annual review of Phytopathology. Volt 30:153-171.

BRASIER, C.M. and SANSOME, E. 1975. Diploidy and gametangial meiosis in Phytophthora cinnamomi, P. infestans and P. dreschsleri. Transaction of the British mycological society. Vol. 65: 49-65.

BRAUCE, H. O. Filogenética aplicada. Ed. limusa. 4ta ed. México. 1980.

CASTAÑO, Jairo. 1996. Manejo del tizón tardío de la papa. Estado actual. Papas Colombianas. con el mejor entorno ambiental. Santa fe de Bogotá. comunicaciones y asociados. 253-272.

CHESNICK, J.M., TUXBURY, K., COLEMAN, A., BURGER, G., LANG, B.F. 1996. Utility of the Mitochondrial NAD4L gene for algal and protistan phylogenetic analysis. J.Phycol. 32: 452-456.

DEACON, J. W. 1990. Introducción a la Micología Moderna. Ed Limusa S.A., México.

DE ROJAS, P. E. 1953. El problema de las razas fisiológicas de Phytophthora infestans (Mont.) De Bary. Contribución a su estudio. Información técnica Vol. 1. No 1: 1-49.

ERWIN, D.C and RIBEIRO. O.K. 1996. P Diseases worldwide. APS Press the American Phythopatological society, St Paul, Minnesota.

FORBES, *et al.* 1997. Population genetic structure of Phytophthora infestans in Ecuador. *Phytopathology*. vol. 87, No 4: 375-380.

FRENCH, E. R; FORBES, G y LANDEO, j. 1994. Ola migratoria de variantes agresivas de Phytophthora infestans amenazan a la papa. *Fitopatología*. Vol. 29, No 1: 15 - 18.

FRY, W. E and GOODWIN, S. B. Recent migrations of Phytophthora infestans. p. 89 - 95. En : Phytophthora infestans 150. Dublin : L. J. Dowley, E. Bannon, L. R. Cooke, T. Keane and E. O Sullivan eds. Pace print, 1995.

-----., and SPIELMAN, L. J. 1991. Population biology. *Advances in plant pathology*. Phytophthora infestans, the cause of late blight of potato. London : D.S. Ingram y P. H. Williams eds. Academic press. 171-192.

GALINGO, J. and GALLEGLY, M. E. 1960. The nature of sexuality in Phytophthora infestans. *Phytopathology*, Vol. 50: 123 - 128.

GALLEGLY, M.E. and GALINDO, J. 1958. Marting. Types and oospores of Phytophthora infestans in nature in Mexico. *Phytopathology*, Volt 48: 274-277.

GARCIA, J. Introducción a los plaguicidas. 1 ed. Costa Rica. EUNED. 1997.

GILCHRIST, R. Elizabeth. Evaluación de la diversidad genética y patogénica de las poblaciones del hongo Phytophthora infestans (Mont.) de Bary, en Antioquia. Tesis (Magister Science en Biotecnología). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Medellín. 2001.

GONZALES, Luis Carlos. Introducción a la fitopatología. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. Costa Rica. 1976. p 20.

GOODWIN, S. B. 1997. The population Genetics of Phytophthora. *Phytopathology*. Vol. 87, No 4: 462 - 473.

-----., SUJKOWSKI, L.S. and FRY, W.G. 1995. Rapid evolution of pathogenicity within clonal lineages of the potato late blight disease fungus. *Phytopathology*, vol. 85. No 6: 669-675.

GONSTINCAN, T. J. Biblioteca de la agricultura. Ed. Idea Bookssa. 2da ed. España. 1998.

GUZMÁN, N. J. 1962. Gota de la papa. ICA informe anual de labores. Programa Nacional de Fitopatología. 20-24.

HENFLING, J. W. 1987. El tizón tardío de la papa Phytophthora infestans. Boletín de información técnica No 4. Centro internacional de la papa (CIP). Lima 25p.

JUDELSON, H. S. 1996. Recent advances in the genetics of Oomycete plant pathogens. *Molecular Plant -Microbe Interactions* 9:443-449

LAGOS, L. 2001. Información primer encuentro Corpoica (Colombia) e INIAP (Ecuador). Pasto, abril 3-5 de 2001.

LE GRAND-PERNOT, F. 1988. Héterozygotie des isolats de Phytophthora infestans; Consequences dans L'apparition des races physiologiques. *Agronomic*, Volt 8 No. 2: 163-168.

LEACH, S.S. and RICH, A.E. 1969. The possible role of parasexuality and cytoplasmic variation in race differentiation in Phytophthora infestans. *Phytopathology*, Volt 59: 1360-1365.

LUJAN, L. Historia de la papa. *Revista papa*. No 16. Pág. 4-29. Diciembre 1996. ICA. Colombia.

MALCOMSON, J. F, and BLACK, W. 1966. New R genes in Solanum demissum Lindl. And their complementary races of Phytophthora infestans (Mont.) de Bary. Euphytica, Vol. 15: 199-203.

MAZO, John y PATIÑO, Luis. Determinación de razas fisiológicas y tipo de apareamiento en aislamientos de Phytophthora infestans (Mont.) de Bary. Medellín, 1995. 66 p. Tesis (Ingeniero Agrónomo). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

MONTOYA, M. y CASTILLO, J. Caracterización de razas fisiológicas y tipo de apareamiento en aislamientos de Phytophthora infestans (Mont.) de Bary, en diferentes pisos térmicos y hospederos, en el Departamento de Antioquia. Medellín. 1998. Tesis (ingeniero Agrónomo). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

MORALES, J.G. y PATIÑO, L.F. Aspectos poblaciones y patogénicos del hongo causante de la gota de la papa. Una revisión crítica. Medellín 1996.

PAQUIN,B., ROEWER,I., WANG, Z., LANG, B.F., 1995. A Robust Fungal Phylogeny using the Mitochondrially Encoded NAD5 Protein Sequence, Can. J. Bot. 73:5180-5185. *Abstract*.

PARDO, V. CEDEÑO, C. M. 1998. Investigación en salud, factores sociales. Ed. Interamericana Mc Graw Hill. p 91-120.

PATIÑO, L. F. *et al.* Comportamiento ecológico y poblacional de la interacción de Phytophthora infestans con diferentes solanaceas. En : XVIII Congreso de Fitopatología y ciencias afines - ASCOLFI. (Julio 30 - Agosto 2, 1997: Palmira).

POTHLMAN, J. M. Mejoramiento genético de las cosechas. Ed. Limusa. México. 1983.

RIVERA-PEÑA, A. 1995. Racial composition in a population of Phytophthora infestans (Mont.) de Bary, in the Toluca Valley and slopes of de Volcano Nevado de Toluca over the period 1989 - 1994. Phytophthora infestans 150. Dublin : L. J: Dowley, E. Bannon, L. R. Cooke, T. Keane and E. O Sullivan eds. Pace print: 116 – 121.

ROBERSTON, N.F. 1991. The challenge of Phytophthora infestans. Advances in plant pathology. Phytophthora infestans, the causes of late blight of potato. London: D.S. Ingram y P.H. Williams eds. Academic press. 1 – 30.

SANSOME, E. 1977. Polyploidy and induced gametangial formation in British isolates of Phytophthora infestans. Journal of general Microbiology, Volt 99: 311-316.

SHATTOCK, R.C; TOOLEY, P. W and FRY, W.E. 1986. Genetics of Phytophthora infestans : Characterization of single-oospore cultures from A1 isolates induces to self by intraespecific stimulation. Phytopathology, Volt 76: 407-410.

SHAW, D. S. 1983. The cytogenetics and Genetics of Phytophthora infestans. Phytophthora its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology. St. Paul : American Pathology Soc: 81-94.

TOLLEY, P.W. and THERRIEN, C.D. 1987. Cytophotometric determination of the nuclear content of 23 Mexican and 18 non-Mexican isolates of Phytophthora infestans. En : Experimental mycology, Vol. II : 19-26.

-----., THERRIEN, C. D. and RITCH, D. L. 1989. Mating type, race composition, nuclear DNA cont, and isozyme analysis of Peruvian isolates of Phytophthora infestans. Phytopathology, Volt 79 : 478-481.

-----., SWEIGARD, J. A. and FRY, W. E. 1986. Fitness and virulence of Phytophthora infestans isolates from sexual and asexual populations. *Phytopathology*, Volt 76): 1209-1212.

TOXOPEUS, H. J. 1956. Reflections on the origin of new physiologic races in Phytophthora infestans and the breeding for resistance in potato. *Euphytica* Vol. 5, No 3: 221-256.

TURKENSTEEN, L. J. 1989. Interaction of R-genes in breeding for resistance of potatoes against Phytophthora infestans. Report of the planning conference on fungal diseases of potato. Lima : International Potato Center. Ed. 85-96.

URQUIJO, P; RODRIGUEZ, J y SANTOALLA, G. Patología vegetal agrícola. Enfermedades de las plantas. Barcelona. Salvat. 1961. 165-182.

# **ANEXOS**

## **ANEXO A**

### **PREPARACION AGAR ARVEJA**

40 g Arveja seca

20 g Azúcar

18 g Agar bacteriológico

Se colocan los 40 g de arveja en remojo durante 24 horas, posteriormente se cocinan en su mismo caldo y se deja que hiervan por un periodo de 10 minutos, se sacan y con la misma cantidad de caldo se licuan, este se cierne con la ayuda de un tamiz, posteriormente se le agregan los 20 g de azúcar y 18 g de agar y se completa a un litro con agua destilada, realizando una mezcla homogénea, se llevan a autoclave a 121°C y 15 lb de presión por 15 minutos, posteriormente se deja enfriar y se adiciona 1 ml de penicilina y 0.1 ml de rifampicina, para controlar la contaminación con hongos y bacterias.

Se sirven en cajas petri con aproximadamente 20 ml del preparado por cada caja.

## ANEXO B

### FRECUENCIA DE RAZAS Y NUMERO DE DIFERENCIALES AFECTADOS POR AISLAMIENTOS DE P. infestans.

Aislamiento	Raza o patotipo	Nomenclatura octal	Número de diferenciales afectados	Frecuencia porcentaje %
U1, U2, C4, G5, E9, E10, SP11, SP12, ER13, SR14, SR15	1.2.3.4.7.10.11	7446	7	57.9
UN6, SS16, SS17	1.3.4.5.10.11	5446	6	15.8
U3, UN8	1.2.3.4.7.8.10.11	7466	8	10.5
SV7	1.2.3.4.6.7.10.11	7546	8	5.2
P18	3.4.7.10.11	1446	5	5.2
T19	1.2.3.7.10.11	7046	6	5.2

Tomado de DETERMINACION DE RAZAS FISIOLÓGICAS Y TIPO DE APAREAMIENTO EN AISLAMIENTOS DE Phytophthora infestans (Mont) de Bary. Medellín, 1995.

## ANEXO C

### FRECUENCIA DEL NUMERO DE FACTORES DE VIRULENCIA DE P. infestans.

Número de factores de virulencia	Número de aislamientos	Frecuencia (%)
0	1	3,44
2	2	6,89
3	1	3,44
4	2	6,89
5	2	6,89
6	1	3,44
7	3	10,34
8	3	10,34
9	8	27,65
10	6	20,68
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>100</b>

Tomado de CARACTERIZACION DE RAZAS FISIOLÓGICAS Y TIPO DE APAREAMIENTO EN AISLAMIENTOS DE Phytophthora infestans (Mont) de Bary, EN DIFERENTES PISOS TERMICOS Y HOSPEDEROS, EN EL DEPARTAMENTO DE ANTIOQUIA. Medellín, 1998.

## ANEXO D

### FRECUENCIA DE LAS RAZAS FISIOLÓGICAS DE P. infestans

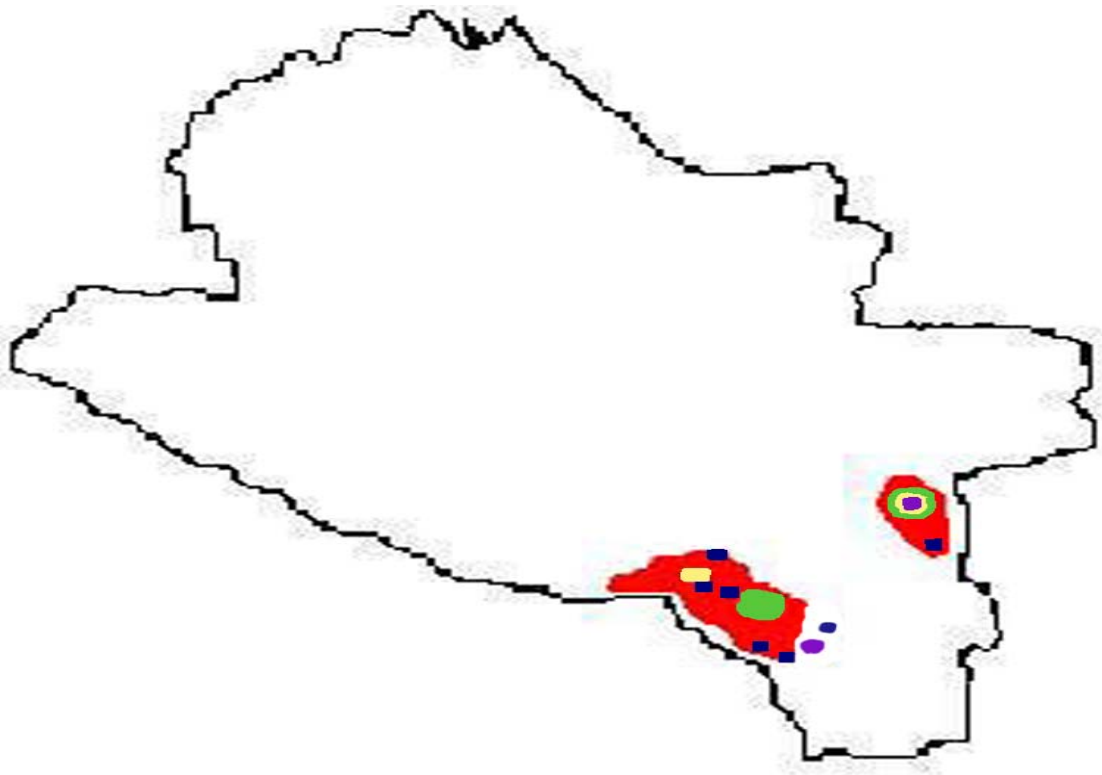
Raza fisiológica	No. Aislamientos evaluados	Frecuencia (%)
7576	6	21.42
7476	3	10.71
7446	3	10.71
7474	1	3.57
5470	1	3.57
7566	1	3.57
1446	1	3.57
5546	1	3.57
7166	1	3.57
1542	1	3.57
1574	1	3.57
4114	1	3.57
5040	1	3.57
1046	1	3.57
5576	1	3.57
0000	1	3.57
1010	1	3.57
7466	2	7.14
<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>100</b>

Tomado de EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA Y PATOGENICA DE LAS POBLACIONES DE Phytophthora infestans (Mont) de Bary EN ANTIOQUIA. Medellín, 2001.



## ANEXO F

### MAPA DE LOCALIZACION DE RAZAS FISIOLÓGICAS EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO



Rojo - Raza 7776

Verde - Raza 7756

Amarillo - Raza 7752

Violeta - Raza 5756

Azul - Raza 7764, 6250, 4254, 3756, 3752, 3514, 2756, 1756, 1254