

## Presencia de aislamientos homotáticos de *Phytophthora infestans* en cultivos de papa (*Solanum tuberosum* L.) tratados con metalaxil en el Valle Toluca, México

C.A. López-Orona<sup>\*,\*\*</sup>, A.R. Martínez-Campos<sup>\*</sup>, C.G. Peñuelas-Rivas<sup>\*\*\*</sup>,  
T.T. Arteaga-Reyes<sup>\*</sup>, C.A. Ruiz-Olmos<sup>\*\*\*\*</sup>, M.A. Gómez-Tenorio<sup>\*\*\*\*</sup>  
y D. Palmero<sup>\*\*\*\*\*,1</sup>

\* Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales. Km. 14.5 Autopista Toluca-Atlacomulco. San Cayetano de Morelos. Toluca, Estado de México. C.P. 50295. México

\*\* Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Agronomía. Carretera Culiacán-Eldorado Km. 17.5. Culiacán de Rosales, Sinaloa. C.P. 80398. México

\*\*\* Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México. C.P. 50090. México

\*\*\*\* Universidad de Almería (UAL), Dpto. Producción Vegetal, Cañada de San Urbano s/n. 04120 15 Almería, España

\*\*\*\*\* Universidad Politécnica de Madrid. EUIT Agrícola. Ciudad Universitaria s/n. C.P. 28040. Madrid. España

### Resumen

El objetivo del presente trabajo es presentar la existencia de cepas homotáticas de *Phytophthora infestans* en los cultivos de papa tratados con metalaxil. Los aislamientos de *Phytophthora infestans* fueron obtenidos de cultivos comerciales de papa del municipio de Zinacantepec, Estado de México (México). Cada aislamiento a estudiar se enfrentó a los aislados de referencia J104 (A1) y J204 (A2) y se cultivó solo en el mismo medio para comprobar su homotalismo. La valoración de la resistencia de los aislados estudiados se determinó bajo la metodología planteada por el FRAC (Fungicide Resistance Action Committee), donde los aislamientos que mostraron más de 40% de crecimiento relativo al testigo en presencia de 5.0 µg/ml (ingrediente activo) de metalaxil fueron considerados como resistentes a la materia activa. Se encontró que de los 5 aislamientos del año 2011, dos aislamientos fueron homotáticos, y de los 15 aislados de 2012 se encontraron cuatro homotáticos. Dichos aislamientos homotáticos, fueron siempre resistentes al metalaxil. Los aislados estudiados procedían de cultivos de papa que fueron tratados con metalaxil. Los resultados obtenidos respecto al homotalismo sugieren una posible relación con el uso del metalaxil, aunque podrá no ser la única causa, dado que aislamientos heterotáticos de la misma procedencia también son resistentes al fitosanitario.

**Palabras clave:** Resistencia a fungicidas, oosporas, mildiu.

### Abstract

**Occurrence of homothallic isolates of *Phytophthora infestans* within potato crops (*Solanum tuberosum* L.) treated with metalaxil in the Toluca Valley, Mexico**

This paper presents the occurrence of homothallic isolates of *Phytophthora infestans* within potato crops treated with metalaxyl. Isolates of *P. infestans* were obtained from potato crops within the municipal-

1. Autor para correspondencia: daniel.palmero@upm.es

<http://dx.doi.org/10.12706/itea.2013.024>

ity of Zinacantepec, State of Mexico (Mexico). Each isolate was confronted with the reference isolates J104 (A1) and J204 (A2) and cultivated in the same medium just to check the homothallism. The measurement of the metalaxyl resistance of the isolates studied was determined under the methodology proposed by the FRAC (Fungicide Resistance Action Committee), where the isolates that showed more than 40% growth relative to the control in the presence of 5.0 mg (active ingredient) of metalaxyl / ml were considered resistant. Results show that two out of the five isolates collected in 2011 were homothallic. Regarding the fifteen isolates collected in 2012, four were homothallic. Such homothallic isolates were resistant to metalaxyl. Keeping in mind that the studied isolates were sampled in potato crops treated with metalaxyl and that showed resistance to this fungicide, the results suggest a possible relationship with and use of metalaxyl and the homothallism. However, it may not be the only reason because heterothallic isolates from the same origin are also resistant to metalaxyl.

**Key words:** Fungicide resistance, oospores, mildew.

## Introducción

La enfermedad del tizón tardío, causada por el patógeno *Phytophthora infestans* ha resurgido en los últimos años como una amenaza significativa para la producción de papa y tomate en todo el mundo (Fry et al., 1997). Esto puede atribuirse en gran medida a los cambios genéticos en el patógeno. Las poblaciones de *P. infestans* del centro de México son muy diversas, lo que indica que esta área es el centro de origen del agente patógeno (Goodwin, et al., 1992). La reproducción sexual de *P. infestans* produce oosporas, las cuales son capaces de sobrevivir en el suelo durante muchos años, resistiendo condiciones ambientales adversas. Las oosporas son importantes en el ciclo del oomicete, ya que el micelio y los esporangios son incapaces de sobrevivir a largo plazo, y aparte necesitan de una planta huésped. En muchos agroecosistemas, las oosporas germinan al inicio de una temporada, lo cual representa el inóculo inicial para las epidemias (Grunwald y Flier, 2005). El ciclo sexual mejora la aptitud del patógeno mediante la generación de genotipos recombinantes que pueden ser más patogénicos o resistentes a los productos químicos (Gavino et al., 2000). El objetivo de esta comunicación es presentar la existencia de cepas homotáticas de *P. infestans* en los cultivos de papa que son tratados con metalaxil.

## Materiales y métodos

### Aislamientos

Los aislamientos utilizados en este estudio fueron obtenidos a partir de plantas de papa infectadas con *Phytophthora infestans* de cultivos comerciales del municipio de Zinacantepec (Fig. 1), este municipio destina 611 ha de secano y 147 ha en regadío para el cultivo de papa, ubicándose como el segundo municipio productor de papa del Estado de México. La mayoría de los aislamientos fueron obtenidos de cultivos de patata cv. *Alpha*, susceptible al patógeno. Veinte aislados fueron transferidos a partir de punta de hifa a medio de cultivo V8 y mantenidos a una temperatura de 19°C en oscuridad.

El código y número de los aislados se resumen en Tabla 1.

### Determinación del tipo de compatibilidad

Los aislados fueron enfrentados para determinar su tipo de compatibilidad con los aislados de referencia J104 (A1) y J204 (A2) que fueron proporcionados por la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (México). Los enfrentamientos se realizaron bajo una temperatura de 15°C y en oscuridad utilizando medio agar-jugo V8, de manera que cada ais-



Figura 1. Localización de los predios de papa de donde se obtuvieron los aislados de *Phytophthora infestans* (Zinacantepec, Estado de México. México).

Figure 1. Location of potato farms where isolates of *Phytophthora infestans* were obtained. (Zinacantepec, State of Mexico. Mexico).

Tabla 1. Código de aislados de *Phytophthora infestans* obtenidos de *Solanum tuberosum* en distintas localidades y años  
 Table 1. Codes of *Phytophthora infestans* isolates from *Solanum tuberosum* in different locations and years

Localidad	Año	Código
La Peñuela	2011	LP1
	2011	LP2
	2011	LP3
	2011	LP4
	2011	LP5
	2012	LPT1
	2012	LPT2
	2012	LPT3
	2012	LPT4
	2012	LPT5
Raíces	2012	RR1
	2012	RR2
	2012	RT1
	2012	RT2
Buenavista	2012	BV1
	2012	BV2
	2012	BVT1
	2012	BVT2
	2012	BVT3

lado a estudiar se enfrentó a los aislados de referencia y se cultivó solo en el mismo medio para comprobar su homotalismo. Se realizaron observaciones diarias para observar la presencia de oosporas a partir del tercer día de contacto entre los aislados de referencia y los originarios del campo, hasta que fueron encontrados oogonios, anteridios y oosporas.

#### Valoración de la resistencia al metalaxil

La valoración de la resistencia se determinó bajo la propuesta planteada por el FRAC (Fun-

gicide Resistance Action Committee, 1992), donde el cálculo se hace a partir del crecimiento relativo (CR) expresado por:

$$CR = (DMCF/DMCT) \times 100$$

Donde, **DMCF**: diámetro medio de la cepa crecida en agar-jugo V8 con una concentración determinada de fungicida.

**DMCT**: diámetro medio de la cepa crecida en agar-jugo V8 sin fungicida (testigo).

Partiendo del criterio empleado por Goodwin et al. (1996) donde el testigo (sin fungicida) fue considerado como 100% del crecimiento, los aislamientos que mostraron más de 40% de crecimiento relativo al testigo en presencia de 5.0 µg de metalaxil (ingrediente activo)/ml fueron considerados resistentes.

Las dosis ensayadas fueron 0, 0.1, 0.5, 1.0 y 5.0 µg/ml incorporados al medio de cultivo (agar-jugo V8) después de la esterilización y de enfriado el medio para evitar degradar el producto. Se realizaron 3 repeticiones por aislamiento de *P. infestans*. La siembra de cada placa de Petri se realizó mediante una pastilla de 8 mm de diámetro tomada del borde del crecimiento activo de una colonia en agar-jugo V8. La incubación se hizo en estufa y en oscuridad a 19°C. Dos diámetros perpendiculares para cada aislado fueron medidos a los 9 días de incubación y después promediados. Se estudiaron un total de 20 aislados procedentes de campos tratados con metalaxil.

#### Resultados y discusión

Los resultados experimentales muestran que, de los 5 aislados del año 2011, 2 aislados fueron homotáticos y los otros 3 fueron del tipo A1. De los 15 aislados de 2012 estudiados, 6 fueron del tipo A1, 5 del tipo A2 y 4 homotáticos. Los aislados homotáticos encontrados fueron capaces de producir órga-

Tabla 2. Porcentaje de crecimiento relativo *in vitro* de los aislados de *Phytophthora infestans* recuperados de tejidos de *Solanum tuberosum* infectados  
 Table 2. Percentage of relative growth of isolates of *Phytophthora infestans* isolated from *Solanum tuberosum* in different locations and years

Aislado <sup>a</sup>	Tipo de compatibilidad	Crecimiento en metalaxil relativo al testigo <sup>b</sup>
		5.0 µl/ml
LPT6	A1	47.74 ± 0.08
LPT1	A2	46.38 ± 0.13
RT1	Homotálico	45.50 ± 0.08
LPT3	Homotálico	45.38 ± 0.06
RR1	Homotálico	45.20 ± 0.08
BV2	A1	44.65 ± 0.08
LPT5	A2	44.30 ± 0.14
LPT2	Homotálico	43.96 ± 0.08
LP4	A1	43.41 ± 0.39
LP5	Homotálico	43.40 ± 0.14
LP3	A1	42.89 ± 0.64
BVT3	A2	42.40 ± 0.08
RR2	A1	42.08 ± 0.14
LPT4	A1	41.96 ± 0.08
LP2	Homotálico	41.36 ± 0.36
LP1	A1	40.45 ± 0.78
BVT1	A2	38.82 ± 0.14
BV1	A1	37.43 ± 0.14
BVT2	A1	36.42 ± 0.08
RT2	A2	35.44 ± 0.14

<sup>a</sup> Listado en orden decreciente de crecimiento relativo a la presencia de 5.0 µl de metalaxil por ml.

<sup>b</sup> Determinado por un ensayo de crecimiento radial. El valor indicado es el promedio y desviación estándar de tres repeticiones.

nos sexuales (anteridios anfiginios y oogonios) por sí mismos en las placas donde se cultivaron solos y fueron capaces de producir órganos sexuales cuando se emparejaron con los aislados de referencia. Dichos aislados

homotálicos fueron resistentes al metalaxil. Estos resultados difieren de los encontrados por Grünwald *et al.* (2001), quienes realizaron un estudio de aislados colectados en la región del Valle de Toluca en los años 1997 y

1998, encontrando una frecuencia equitativa 1:1 de los tipos de compatibilidad A1 y A2, pero no relataron haber encontrado aislamientos homotáticos. No obstante, Fernández et al. (2005) estudiaron una población de 27 aislados obtenidos de cultivo de papa en el Estado de Michoacán (México), donde encontraron 2 aislados homotáticos, y una proporción 1:1 en los tipos A1 y A2. La presencia de aislados homotáticos podría estar ligada al uso de metalaxil, Groves y Ristaino (2000), demostraron que ciertos aislados heterotáticos fueron capaces de producir oosporas al exponerlos a diversos fungicidas, así los aislamientos resistentes a metalaxil produjeron mayor número de oosporas que los sensibles a metalaxil. En Israel (Rubin y Cohen, 2004 y 2006) y España (Segura et al., 2007) se han descrito aislados de *Phytophthora infestans* que, sin ser homotáticos, presentaban los dos tipos de compatibilidad. Teniendo presente que los aislados estudiados procedían de cultivos de papa que recibían tratamientos con metalaxil y que mostraron resistencia a este fungicida, los resultados obtenidos respecto al homotalismo sugieren una posible relación con el uso del metalaxil. Todos los aislamientos homotáticos mostraron resistencia al metalaxil "in vitro" (Tabla 2). Una posible interpretación es que el metalaxil puede estar influenciando en el homotalismo, pero tal vez no sea el único factor.

### Agradecimientos

Los autores agradecemos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de manutención otorgada a López Orona para la realización de sus estudios de Doctorado, y a la Universidad Autónoma del Estado de México por la financiación de este proyecto de investigación. López Orona agradece a la Universidad Autónoma de Sinaloa el apoyo otorgado por parte del Programa de Doctores Jóvenes.

### Bibliografía

- Fernández Pavia SP, Rodríguez Alvarado G, Garay Serrano E, Belmar Díaz CR, Sturbaum AK, Flier W y Lozoya Saldaña H, 2005. Caracterización de aislamientos de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary provenientes de Michoacán, México. Revista Mexicana de Fitopatología 23: 191-197.
- FRAC, 1992. FRAC methods for monitoring the sensitivity of fungal pathogens to phenylamide fungicides. EPPO Bulletin 22, 297-322.
- Fry WE and Goodwin SB, 1997. Resurgence of the Irish potato famine fungus. Bioscience 47: 363-371.
- Gavino PD, Smart CD, Sandrock RW, Miller JS, Hamm PB, Lee TY, Davis RM, Fry WE, 2000. Implications of sexual reproduction for *Phytophthora infestans* in the United States: generation of an aggressive lineage. Plant Disease 84, 731-735.
- Gisi U and Cohen Y, 1995. Resistance to phenylamide fungicides: A case study with *Phytophthora infestans* involving mating type and race structure. Annu. Rev. Phytopathol. 34: 549-572.
- Goodwin SB, Sujkowski LS, Fry WE, 1996. Widespread distribution and probable origin of resistance to metalaxyl in clonal genotypes of *Phytophthora infestans* in the United States and Western Canada. Phytopathology, 86, 793-800.
- Goodwin SB, Spielman LJ, Matuzsak JM, Bergeron SN and Fry WE, 1992. Clonal diversity and genetic differentiation of *Phytophthora infestans* populations in northern and central Mexico. Phytopathology. 82: 955-961.
- Groves CT and Ristaino JB, 2000. Commercial fungicide formulations induce in vitro oospore formation and phenotypic change in mating type in *Phytophthora infestans*. Phytopathology 90: 1201-1208.
- Grünwald NJ, Flier WG, Sturbaum AK, Garay-Serrano E, van den Bosch TBM, Smart CD, Matuszak JM, Lozoya-Saldaña H, Turkensteen LJ and Fry WE, 2001. Population structure of *Phytophthora infestans* in the Toluca valley region of central Mexico. Phytopathology 91: 882-890.
- Grunwald NJ, Flier WG, 2005. The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin. Ann. Rev. Phytopathol. 43, 171-190.

Rubin E and Cohen Y, 2006. An improved method for infecting tomato leaves or seedlings with oospores of *Phytophthora infestans* used to investigate F1 progeny. Plant Dis. 90: 741-749.

Rubin E and Cohen Y, 2004. Oospores Associated with Tomato Seed May Lead to Seedborne Transmission of *Phytophthora infestans*. Phytoparasitica 32(3): 237-245.

Segura JM, de Cara M, Santos M and Tello J, 2007. *Phytophthora infestans* Mating Types on Tomato (*Solanum lycopersicum*) in Southern Spain. Plant Disease. 91: 109.

(Aceptado para publicación el 10 de mayo de 2013)