

SELECCION DE GENOTIPOS DE PAPA (*Solanum
tuberosum*) RESISTENTES A TIZON TARDIO
(*Phytophthora infestans*)

CARLOS TIMOTEO BERMUDEZ DIAZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS
EN FITOMEJORAMIENTO



BIBLIOTECA
EGIDIO G. REBONATO
BANCO DE TESIS
U.A.A.A.N.



**Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro**

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista, Saltillo, Coah.

JUNIO DE 1998

10094

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

SUBDIRECCION DE POSTGRADO

SELECCION DE GENOTIPOS DE PAPA (*Solanum tuberosum*)
RESISTENTES A TIZON TARDIO (*Phytophthora infestans*)

TESIS

POR

CARLOS TIMOTEO BERMUDEZ DIAZ

Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y
aprobado como requisito parcial para optar el grado de :

MAESTRO EN CIENCIAS EN
FITOMEJORAMIENTO

COMITE PARTICULAR

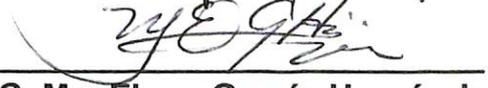
Asesor Principal


M.C. Leticia Escobedo Bocado

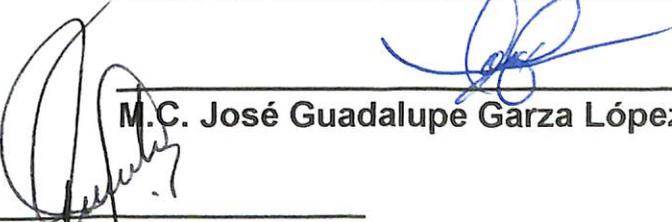
Asesor


DR. Gustavo Alberto Frias Treviño

Asesor


M.C. Ma. Elena García Hernández

Asesor :


M.C. José Guadalupe Garza López


DR. Jesús Manuel Fuentes Rodríguez
Subdirector de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila, Junio de 1998

COMPENDIO

**SELECCIÓN DE GENOTIPOS DE PAPA (*Solanum tuberosum*) RESISTENTES A
TIZON TARDIO (*Phytophthora infestans*).**

POR

CARLOS TIMOTEO BERMUDEZ DIAZ

MAESTRO EN CIENCIAS

FITOMEJORAMIENTO

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Buenvista, Saltillo, Coahuila, Junio 1998.

-Asesor- M.C. LETICIA ESCOBEDO BOCARDO

Palabras claves: *Solanum tuberosum*, *Phytophthora infestans*, resistencia, tizón tardío, métodos de inoculación, filtrado tóxico, suspensión conidial.

La selección de plantas resistentes a enfermedades, en base a su reacción a las toxinas producidas por fitopatógenos es un método que se ha utilizado con éxito en algunos patosistemas. En el caso de la selección de genotipos de papa (*Solanum tuberosum*) resistentes a tizón tardío (*Phytophthora infestans*), este método de selección ha sido poco estudiado y por lo tanto se desconoce el potencial que puede tener en los programas de mejoramiento de la resistencia a la enfermedad.

En el presente estudio se evaluó la reacción de nueve genotipos de papa a la inoculación con zoosporas de dos cepas de *Phytophthora infestans* y al filtrado de cultivos líquidos de estas cepas. Seis de los genotipos (676087, 750935, Tollocan, 751259, 720088 y 573272) reaccionaron de manera similar al filtrado tóxico y a la inoculación con zoosporas. Dos genotipos (Norteña y Atzimba) fueron susceptibles al filtrado tóxico del hongo, pero resistentes a la inoculación con zoosporas; el caso contrario, es decir, resistentes al filtrado y susceptibles a zoosporas ocurrió en la variedad Alpha. La discrepancia entre la reacción al filtrado y zoosporas sólo puede explicarse si consideramos que existe más de un mecanismo de resistencia y que estos actúan de manera independiente. Por ejemplo la respuesta de resistencia de Norteña y Atzimba a la inoculación con zoosporas parece ser el resultado de genes mayores (R) que inducen la reacción de hipersensibilidad, evitando que el hongo colonice el tejido de la planta. En estos casos la reacción a la toxina no juega un papel importante en la resistencia a la enfermedad, a menos que la raza del hongo posea el gen de virulencia (v) que se acople al gen R para evitar la reacción de hipersensibilidad.

Los genotipos 676087, 750936, Tollocan, 751259, 720088 y 573272, no reaccionaron de manera hipersensible a la inoculación con zoosporas y el patógeno

colonizó en mayor a menor grado el tejido de la planta. En estos casos, la velocidad de crecimiento del hongo y por lo tanto el grado de resistencia del genotipo parece depender de la capacidad de la planta de resistir a la acción de la toxina; si esta interpretación de los resultados es correcta, evaluar la reacción de genotipos de papa a los filtrados tóxicos del hongo equivaldría a medir la resistencia a la colonización de los tejidos de la planta por el hongo, es decir mediríamos el grado de resistencia horizontal.

El único genotipo que no se ajusta a la hipótesis mencionada anteriormente, es la variedad Alpha que resulto resistente al filtrado pero susceptible a la inoculación con zoosporas. Casos como este podría ocurrir cuando la toxina producida in vitro no sea equivalente a la producción en vivo, o bien cuando la resistencia de la planta a la toxina sea inhibida por productos del metabolismo resultantes de la colonización del tejido.

Los resultados de este estudio indican que los filtrados de cultivos líquidos de *Phytophthora infestans* podrían utilizarse para seleccionar in vitro o in vivo genotipos de resistencia horizontal al tizón tardío de la papa, aunque se deben tomar las precauciones necesarias para reconocer los casos en los que existe una relación directa entre la reacción al filtrado tóxico y a la inoculación con zoosporas, como sucedió en esta investigación con la variedad Alpha. Es recomendable evaluar más extensivamente la relación entre la respuesta al filtrado tóxico y a la inoculación con zoosporas, para estimar la frecuencia en que ocurren discrepancias.

ABSTRACT

SELECTION OF POTATOE GENOTYPES (*Solanum tuberosum*) RESISTANT TO
LATE BLIGHT (*Phytophthora infestans*)

BY

CARLOS TIMOTEO BERMUDEZ DIAZ

MASTER OF SCIENCE

PLANT BREEDING

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Buenavista, Saltillo, Coah. June 1998.

M.C. LETICIA ESCOBEDO BOCARDO-Asesor-

Key words: *Solanum tuberosum*, *Phytophthora infestans*, resistance, strumps, inoculation methods, late blight, toxic filter, conidial suspension.

The selection of resistant plants to diseases based in their reaction to toxins produced by plant pathogens has been succesfull, in some pathosystems.

In the selection of resistant genotypes in potatoes (*Solanum tuberosum*) to late blight (*Phytophthora infestans*), a few studies with this selection method have been undertaken, by the way something is unknown about the potential use in the disease resistance programs.

In this study we evaluated the reaction of nine genotypes of potatoes to either, the inoculation with zoospores of two *P. infestans* strains, or filtrateds of liquid cultures of this strains. Both, toxic filtrated and zoospores inoculation induced similar reaction in six genotypes (676087, 750936, Tollocan, 751259, 720088, and 573272). Two genotypes (Norteña and Atzimba) were susceptible to the toxic filtrated but they were resistant to zoospore inoculation. The alpha variety was resistant to the toxic filtrated but it was susceptible to zoospore inoculation.

The discrepancy between reaction to toxic filtrated or zoospores only can be explained due there are several resistance mechanisms and each one acts of independent way. For example, the resistant reaction in Norteña and Atzinba to zoospores inoculation could be the result of main genes (R) which induce hypersensibility reaction and avoid fungus colonization in the plant. In this examples, the reaction to the toxin does not play an important rol in the resistance to disease unless the race of the fungus posses the virulence gen (v), wich can join to R gen and avoid the hypersensibility reaction.

The genotypes 676087, 750936, Tollocan, 751259, 720088, and 573272 didn't show hypersensitive reaction with zoospores inoculation and in consequence the pathogen colonized tissues in the plant. In this examples the fungus velocity growth and the level of resistance of the genotype seems to depend of the resistance to the toxin

by the plant. If this interpretation of results is correct, the evaluation of the reaction in potato genotypes to the toxic filtrate of the fungus would be equal to measure the resistance to the tissue colonization in the plants by the fungus or measure the level of the horizontal resistance.

The hypothesis mentioned above is not true for the Alpha genotype, which was resistant to the filtrate but it was susceptible to zoospore inoculation. This case would have occurrence when the toxin produced in vitro it is not equal to the toxin produced in vivo, or when the resistance of the plant to the toxin is inhibited by metabolic products resultants of the tissue colonization.

The results of this study indicate that the filtrate of the liquid cultures of *P. infestans* could be utilized for in vitro or in vivo genotype selection with horizontal resistance to late blight in potatoes, although necessary warnings must be taken for recognizing the examples in which there is not a direct relation between the reaction to the toxic filtrate and the zoospore inoculation like to the Alpha results. It is commendable to evaluate more extensively the relation between the response of the toxic filtrate and the zoospore inoculation for estimating frequency of discrepancy.

INDICE DE CONTENIDO

	PAGINA
INDICE DE CUADROS.....	x
INDICE DE FIGURAS.....	xi
INTRODUCCION.....	1
OBJETIVO GENERAL.....	3
OBJETIVOS PARTICULARES.....	3
HIPOTESIS.....	4
REVISION DE LITERATURA.....	5
GENERALIDADES DEL CULTIVO DE LA PAPA.....	5
ORIGEN Y DISTRIBUCION DEL CULTIVO.....	5
CARACTERISTICAS BOTANICAS.....	7
NECESIDADES CLIMATICAS.....	9
REQUERIMIENTOS DE SUELO Y FERTILIZACION.....	9
ANTECEDENTES Y DISTRIBUCION DEL TIZON TARDIO.....	10
UBICACION TAXONOMICA Y CARACTERISTICAS DEL PATOGENO.....	11
SINTOMAS DE LA ENFERMEDAD.....	13
EPIDEMIOLOGIA.....	14
CICLO BIOLÓGICO.....	16
REPRODUCCION.....	17
RAZAS FISIOLÓGICAS.....	19
MECANISMOS DE RESISTENCIA.....	20
GENÉTICA DE LA RESISTENCIA.....	24
HOSPEDEROS DEL HONGO.....	28
FISIOLOGIA DEL PATOGENO Y PRODUCCION DE INOCULO.....	28
GENERALIDADES DE TOXINAS.....	30
MECANISMOS DE ACCION DE LAS TOXINAS.....	32
EFECTO DE LA RESISTENCIA A TOXINAS.....	34
DIFERENTES CONDICIONES NUTRICIONALES PARA PRODUCIR TOXINAS.....	35
TERMINOS RELACIONADOS CON ENFERMEDADES DE TOXINAS.....	36
PRINCIPALES TOXINAS HOSPEDERO-ESPECIFICAS.....	37
PRINCIPALES TOXINAS NO HOSPEDERO ESPECIFICAS.....	38

PRODUCCION DE TOXINA POR <i>Phytophthora</i> spp.....	39
TOXINA DE <i>Phytophthora infestans</i>	40
OTRAS INVESTIGACIONES.....	42
MATERIALES Y METODOS.....	43
AISLAMIENTO, PURIFICACION Y CONSERVACION DEL HONGO <i>Phytophthora infestans</i>	43
PREPARACION DE INOCULO DE <i>Phytophthora infestans</i>	44
PRUEBAS DE AGRESIVIDAD DE LOS AISLAMIENTOS DE <i>Phytophthora infestans</i>	44
PREPARACION DE FILTRADO TOXICO.....	45
EVALUACION DE LA TOXICIDAD DEL FILTRADO.....	46
ESTABLECIMIENTO DE GENOTIPOS EN INVERNADERO.....	46
EVALUACION DE RESISTENCIA DE GENOTIPOS DE PAPA.....	47
INOCULACION CON SUSPENSION DE ZOOSPORAS.....	47
EXPOSICION A FILTRADO TOXICO.....	48
DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANALISIS ESTADISTICO.....	48
RESULTADOS.....	51
AISLAMIENTOS DE <i>Phytophthora infestans</i>	51
AGRESIVIDAD DE LOS AISLAMIENTOS DE <i>Phytophthora</i> <i>infestans</i>	51
EVALUACION DE LA TOXICIDAD DEL FILTRADO.....	51
EVALUACION DE RESISTENCIA DE GENOTIPOS DE PAPA A <i>Phytophthora infestans</i>	53
DISCUSION.....	57
CONCLUSIONES.....	61
RESUMEN.....	62
LITERATURA CITADA.....	64

INDICE DE CUADROS

CUADRO		PAGINA
2.1	PRINCIPALES TOXINAS ESPECIFICAS DEL HOSPEDERO QUE CAUSAN ENFERMEDADEN LAS PLANTAS.....	37
2.2	PRINCIPALES TOXINAS NO ESPECIFICAS DEL HOSPEDERO QUE CAUSAN ENFERNMEDAD EN LAS PLANTAS.....	38
4.1	ANALISIS DE VARIANZA PARA SEVERIDAD DEL DAÑO DE SIETE CEPAS DE TIZON TARDIO (<i>Phytophthora infestans</i>) SOBRE EL CULTIVAR ALPHA.....	52
4.2	COMPARACION DE MEDIAS POR DMS PARA SEVERIDAD DE SIETE CEPAS DE TIZON TARDIO (<i>Phytophthora infestans</i>) SOBRE EL CULTIVAR ALPHA.....	52
4.3	ANALISIS DE VARIANZA PARA CINCO CONCENTRACIONES DE FILTRADO TOXICO DE LAS CEPAS EZ1 Y EZ4 DE <i>Phytophthora infestans</i> SOBRE EL CULTIVAR ALPHA.....	53
4.4	COMPARACION DE MEDIAS POR DMS DE LA VARIEDAD ALPHA DE PAPA (<i>Solanum tuberosum</i>) TRATADA CON CINCO CONCENTRACIONES DE FILTRADO TOXICO DE LAS CEPAS EZ1 Y EZ4 DEL HONGO (<i>Phytophthora infestans</i>).....	53
4.5	ANALISIS DE VARIANZA PARA SEVERIDAD OCASIONADA POR <i>Phytophthora infestans</i> SOBRE FOLIOLOS Y PECIOLOS DE PAPA.....	54
4.6	EVALUACION DE RESISTENCIA DE GENOTIPOS DE PAPA A LA EXPOSICION AL FILTRADO TOXICO Y SUSPENSION DE ZOOSPORAS CON LA CEPA EZ1 DE <i>Phytophthora infestans</i>	55
4.7	EVALUACION DE RESISTENCIA DE GENOTIPOS DE PAPA A LA EXPOSICION AL FILTRADO TOXICO Y SUSPENSION DE ZOOSPORAS CON LA CEPA EZ4 DE <i>Phytophthora infestans</i>	56

INDICE DE FIGURAS

FIGURA		PAGINA
4.1	EFFECTO DE LA INOCULACION CON FILTRADO TOXICO Y SUSPENSION DE ZOOSPORAS DE <i>Phytophthora infestans</i> CON LA CEPA EZ1 EN GENOTIPOS DE PAPA.....	49
4.2	EFFECTO DE LA INOCULACION CON FILTRADO TOXICO Y SUSPENSION DE ZOOSPORAS DE <i>Phytophthora infestans</i> CON LA CEPA EZ4 EN GENOTIPOS DE PAPA.....	50

INTRODUCCION

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.), se ubica dentro de los primeros cultivos en producción mundial, es una importante fuente de alimentación de alto valor nutritivo por unidad de superficie cosechada, superado únicamente por el trigo, arroz y maíz; destinándose a su cultivo 22 millones de hectáreas con una producción total de 293 millones de toneladas; siendo los principales países productores: URRS, POLONIA, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA y REPUBLICA POPULAR DE CHINA, en tanto que para INGLATERRA, HOLANDA, ALEMANIA y SUECIA la papa constituye un alimento básico (SARH, INIFAP, CIFAP, 1989; Valadez, 1992).

El cultivo de papa en México creció en los últimos 50 años por su alto rendimiento unitario y su gran demanda en el mercado. Se reporta para 1994 una superficie total cultivada de 61,167,186 toneladas, con un rendimiento promedio de 19.084 ton/ha (INEGI, 1995).

El abastecimiento nacional se origina principalmente en 15 estados, Puebla, Edo. de México, Veracruz, Chihuahua, Sinaloa, Tlaxcala, Michoacán, Baja California Norte, Sonora, Guanajuato, Nuevo León, Hidalgo, Aguascalientes, Durango y Jalisco; destacando en los últimos años Coahuila y Nayarit por sus altos rendimientos por hectárea (DEGEA, 1981; Valadez, 1992).

En la región de Navidad, Nuevo León y Coahuila, se destina gran parte de su superficie (5,221 ha) a la explotación de este cultivo y se produce un rendimiento medio comercial de 37 ton/ha; además se genera una gran cantidad de mano de obra, por lo que adquiere mayor importancia regional (INEGI, 1995).

La producción de papa en algunas partes del mundo, esta en función de la tecnología apropiada al cultivo y principalmente del control que se tenga de la enfermedad llamada tizón tardío causado por *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, ya que por ser muy devastadora, puede provocar de un 80 hasta un 100 por ciento de pérdidas en caso de variedades susceptibles, cuando no se logra un control adecuado de la enfermedad.

Tal es el caso de la región papera del Sur de Nuevo León y Coahuila, donde se destina hasta el 15 por ciento del costo del cultivo al control del tizón tardío, llegando a realizar de 21 a 40 aplicaciones de fungicidas por ciclo, incrementando costos de producción y contaminación ambiental, aun así el 20 por ciento de pérdidas en el rendimiento total regional se le atribuye a dicho hongo (Parga, 1989).

Dada la magnitud de los daños ocasionados por *Phytophthora infestans*, el abuso en las aplicaciones de fungicidas, como única alternativa de lucha contra esta enfermedad y el avance desproporcionado de la epidemia; resulta indispensable la obtención de variedades resistentes, requiriéndose para ello materiales que puedan servir como fuente de resistencia a dicha enfermedad. El esfuerzo de fitomejoradores de plantas en encontrar y desarrollar métodos eficientes, rápidos y económicos para encontrar especies de plantas cultivadas resistentes a las enfermedades, ha sido un

proceso largo y continuo, ya que la capacidad de los organismos fitopatógenos de mutar hacia razas fisiológicas virulentas, capaces de competir con los genes que contienen la resistencia, hace que en pocos años ésta se pierda, reapareciendo la susceptibilidad (Allar, 1980). El combate de la enfermedad mediante resistencia genética es más ventajosa para el agricultor. Se han determinado amplias diferencias de susceptibilidad a *Phytophthora infestans* en condiciones de infección natural, así como bajo diversos métodos de inoculación artificial (Guzmán *et al.*, 1966).

Al respecto diversas investigaciones indican que con las exposiciones de plantas de papa al filtrado tóxico del hongo *Phytophthora infestans* bajo condiciones de laboratorio, es factible evaluar la resistencia de un mayor número de plantas en un tiempo relativamente corto.

En base a los conceptos anteriores, se plantearon los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la resistencia de diversos genotipos de papa *Solanum tuberosum* al hongo *Phytophthora infestans*.

OBJETIVOS PARTICULARES

a) Comparar dos métodos para evaluar la resistencia al tizón tardío en papa. Aplicación de filtrado tóxico y suspensión de zoosporas.

b) Evaluar la resistencia de genotipos de papa a dos cepas de *Phytophthora infestans*.

HIPOTESIS

c) El uso del filtrado tóxico y suspensión de zoosporas procedentes de *Phytophthora infestans* en plantas de papa nos permite seleccionar genotipos resistentes a tizón tardío.

d) Las cepas de *Phytophthora infestans* se comportan de manera diferente en cuanto a su patogenicidad.

REVISION DE LITERATURA

Generalidades del Cultivo de la Papa

Origen y Distribución del Cultivo

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es originaria de la región fría y montañosa de los Andes de América del Sur, donde ha servido como parte principal de la dieta del habitante nativo por siglos o milenios, no obstante resulta difícil determinar el lugar exacto de su procedencia. Su existencia data desde los años 2500 a 500 A.C., probablemente en el Altiplano cerca del lago Titicaca (Hawkes, 1944).

Vavilov (1951) y Yamaguchi (1983) consideran a la papa, originaria de la parte alta de los Andes en América del Sur, Perú, Ecuador, Bolivia y Colombia. Mientras que Ross (1986) menciona que la papa tiene dos centros de diversidad, los Andes de Bolivia, Perú y la región montañosa de México.

Posteriormente la papa fue introducida a Europa a fines del siglo XVI, inicialmente en España, extendiéndose después a Portugal, Italia, Alemania y Francia; no encontrando aceptación general como cultivo, hasta mediados del siglo XVIII (Moreno 1970). Aunque Hawkes (1978) indica una segunda introducción a Europa en 1587 a Irlanda donde fue bien recibida desplazando otros cultivos.

La papa cultivada, género *Solanum* contiene cerca de 2,000 especies distribuidas por todo el mundo. *Solanum tuberosum* tiene siete especies cultivadas y ciento cincuenta y cuatro especies silvestres oficialmente reconocidas (Harris, 1978).

Cásseres (1966) menciona a *Solanum tuberosum* L. y *Solanum andigenum*, como especies tetraploides cultivables a nivel mundial cuyo número cromosómico básico es $N=12$.

Niederhauser (1986) reporta numerosos tipos de *Solanum* tuberíferos en América del Sur, Central y en México. Se encuentran en estas zonas diversos grados de poliploidia, lo mismo que especies silvestres al lado de las cultivadas. Los diploides ($2n=24$) se cultivan en Colombia, entre los 1000 y 2000 m, de los que destaca el *Solanum phureja*. El *Solanum commersonii* cultivado en Uruguay es triploide, *Solanum tuberosum* y el *Solanum andigenum* son tetraploides ($4n=48$), y el *Solanum demissum* (espontáneo en México) es hexaploide ($6n=72$).

En México, las especies silvestres de este cultivo fueron reconocidas en la segunda década del siglo pasado, la primera fue *Solanum bulbo castanum*, siguiéndole *Solanum estolonifera* y *Solanum berucosum*, posteriormente se identificaron *Solanum demissum* y *Solanum cariophillum* en 1948.

Estudios citológicos más recientes, indican que en nuestro país existen los representantes de la serie poliploide (24, 36, 48, 60 y 72 cromosomas); sin embargo, sólo *Solanum demissum*, *Solanum antiporiccti* y *Solanum ajuscoense* son susceptibles de cruzamientos con las papas cultivadas actualmente.

Según Hawkes (1958) el género *Solanum*, contiene el mayor número de especies en el reino vegetal y su distribución es mundial. Encontrándose la mayor concentración de especies en el continente Americano como ocurre en general con la familia Solanácea (Montaldo, 1984).

En México, la papa se cultiva desde 15 msnm, como algunas zonas de Baja California Norte, Sonora y Sinaloa; hasta los 3000 msnm en sierras y valles altos del estado de México, Tlaxcala y Puebla; sin embargo es más frecuente encontrarla a altitudes de 1300 a 2200 msnm (Valadez, 1992).

Características Botánicas

La papa es una planta anual y perenne de tipo herbáceo arbustiva, alcanza una altura entre 40 y 80 cm y un ciclo vegetativo de tres a cinco meses (Tamaro, 1980; Valadez, 1992; SEP, 1984). La raíz es gruesa y pivotante en un principio y después forma un sistema radical fibroso y muy ramificado, alcanzando a desarrollar de 90 a 120 cm tanto vertical como lateralmente encontrándose la mayoría de las raíces en los primeros 40 cm del suelo. Las raíces no tienen la posibilidad de producir tubérculos (Tamaro, 1980; Montaldo, 1984; Edmón *et al.*, 1967).

La papa produce 2 tipos de tallos, uno aéreo y otro subterráneo. El tallo aéreo es normal de tipo herbáceo, erecto, poco veloso y con ramificaciones no muy desarrolladas. Los subterráneos son tallos modificados, que se llaman tubérculos, que empiezan como un estolón que se engruesa por la planta y que luego forma el tubérculo. Los tubérculos son esféricos, subglobosos o elipsoidales y constituyen la parte comestible de la planta,

pesando de 50 a 500 gr, son de color blanco o amarillo en la parte interna y con la cáscara delgada, papirácea y morena con tonalidades amarilla, roja, rosada, violeta o blanco según la variedad. Cada tubérculo posee un cierto número de yemas u ojos, situados en pequeñas depresiones y más cercanos al vértice o corona que a la base del tubérculo (Edmón *et al.*, 1967; Tamaro, 1980; Messian, 1979 y Valadez, 1992).

Las hojas son de tipo compuesto, con varios folíolos opuestos y uno grande como terminal, son un poco vellosas, en las axilas que forman las hojas con el tallo salen las yemas vegetativas (García, 1959; SEP, 1984).

Las flores, blancas, rosadas o violetas están dispuestas en cimas corimbiformes, provistas de largos pedúnculos. Las flores individuales son perfectas, hermafroditas (de simetría radial) de 2.5 a 3 cm de diámetro; el cáliz es gamosépalo, pentadentado (de cinco sépalos). La corola es rotácea con cinco lóbulos agudos (pétalos) dispuestos horizontalmente, a manera de rueda, proyectados como los rayos de una estrella; el andróceo con cinco estambres con filamentos cortos y blancos, cada estambre posee dos anteras de color amarillo pálido, amarillo fuerte o anaranjado. Las anteras forman un cono alrededor del estilo; el gineceo tiene ovario súpero, bicarpelar, bilocular y multiovulado (Edmond *et al.*, 1967; Montaldo, 1984).

Los frutos son bayas globosas, primero de color verde y más tarde violáceas, tienen un diámetro aproximado de dos cm, cada fruto contiene numerosas semillas blancas y aplastadas. Conservan su poder germinativo durante 9 a 28 años (Montaldo, 1984; Cásseres, 1981).

Necesidades Climáticas

Es una planta semirresistente al frío, pero que no tolera heladas. Las temperaturas óptimas ambientales para obtener los máximos rendimientos son de 15.5 a 18.5 °C. La temperatura óptima del suelo para la emergencia es de 22 °C; temperaturas altas retardan su emergencia. Se reporta que temperaturas de 16 °C por la noche y mayores de 18 °C por el día arrojan los rendimientos más altos y la cantidad de almidón más elevada; cabe mencionar que esta relación de temperaturas también depende del cultivar.

Se ha comprobado que el fotoperiodo y la temperatura afectan la formación del tubérculo; en días largos la formación de tubérculos ocurre si la temperatura nocturna es inferior a 20 °C, siendo la óptima de 12 °C (Yamaguchi, 1983). Asimismo, se menciona que para obtener una buena calidad de papa (relación almidón/azúcares) en el día deben presentarse temperaturas altas (26 °C) con buena luminosidad y temperaturas nocturnas de 12 a 16 °C durante el crecimiento vegetativo. La meta que se persigue es que debe existir mayor concentración de almidón que de azúcar en el tubérculo (Valadez y De Alba, 1985).

Requerimientos de Suelo y Fertilización

La papa se desarrolla bien en suelos francos y arenosos, con buen contenido de materia orgánica y óptimo drenaje. En lo referente al pH, la papa está clasificada como altamente tolerante a la acidez, teniendo valores de pH= 6.5-5.0. Es una hortaliza tolerante a la salinidad, con valores de 64 000 a 2560 ppm (10 a 4 mmho) (Richards,

1954; Maas, 1984). En lo que respecta a la fertilización la papa extrae del suelo principalmente los elementos N, P, K, Ca, Mg (Valadez, 1992).

Antecedentes y Distribución del Tizón Tardío

El tizón tardío de la papa *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, puede considerarse universal, se localiza en todas las regiones donde se cultiva la papa, haciendo acto de presencia cuando las condiciones ambientales son propicias (Walker, 1965).

El hongo *Phytophthora infestans*, es el organismo causal de la enfermedad más devastadora del cultivo de papa conocida comunmente como tizón tardío, "chahuixtle" o "quema" (Parga, 1989).

Reddick (1932), Niederhauser (1986) y Fernández (1985) indican que *Phytophthora infestans* es originario de México, ya que en este país se encuentra una población de razas altamente especializadas. A su vez Montaldo (1984) menciona que el hongo se encuentra en forma permanente en el valle de Toluca y es probable que halla existido ahí por cientos de años; además Mendoza y Pinto (1985) y Agrios (1985) indican que es el único lugar del mundo donde se producen oosporas sexuales, por tal motivo, se presupone que de aquí fue distribuido a otras partes del mundo. De esta manera a México se le conoce no solo como la fuente principal de germoplasma para la resistencia al tizón tardío, sino que también es reconocido como la fuente única de material genético del mismo *Phytophthora infestans* para el estudio de su genética y de los mecanismos, tanto sexuales como asexuales, responsables de su variabilidad.

Heald (1933) y Walker (1957) concuerdan en que el tizón tardío de la papa fue introducido a Europa y Estados Unidos entre 1830 y 1840. Después de 1940, el microorganismo salió de alguna manera de su enclave biológica y se diseminó por todo el mundo con una velocidad alarmante (CIP, 1993).

De los agentes patógenos, ninguno ha tenido un impacto social tan fuerte como el del tizón tardío, durante 1845 y 1846 ocasionó la muerte por hambre y emigración de millones de Irlandeses a América, al ser devastados los cultivos de papa (Montaldo, 1984), además ha ocasionado daños de considerable importancia en muchos países de Europa, Asia, Africa y América (CIP, 1993).

Ubicación Taxonómica y Características del Patógeno

Alexopoulos y Mims (1985) mencionan que de la clase Oomycetes los hongos más complejos son los parásitos de plantas terrestres, siendo el orden peronosporales el más especializado de esta clase y en donde se encuentra clasificada la familia Pythiaceae.

Mendoza y Pinto (1985) y Romero (1988), describen el micelio del hongo como liso, poco ramificado con un promedio de 9.2 micras de diámetro, con hifas cenocíticas y robustas; esporangióforos abundantes, en simpodio compuesto, con hinchamientos en las ramas donde nacen los esporangios, de crecimiento indeterminado; esporangios ovales a elípticos, alimonados, con papila inconspicua, deciduos. El esporangio germina, ya sea directamente, mediante un tubo de germinación o por medio de zoosporas, el tamaño del esporangio es extremadamente variable de 29x19 micras en promedio.

Es una especie con oogonios esféricos lisos, globosos, terminales y activos, de 38 a 50 micras; el anteridio es anfígeno y pasivo; oosporas lisas, de paredes gruesas esféricas, apleróticas de 25 a 35 micras de diámetro; especie heterotálica.

Alexopoulos y Mims (1985) describen a Martius 1842, como el primer investigador en ocuparse de la taxonomía de *Phytophthora infestans* y le dio el nombre de *Gangrena tuberum solani*; en 1845, Montagne lo clasificó como *Botrytis infestans*; Unger, en 1847, lo cambió al género *Peronospera*, hasta que finalmente, Anton De Bary, en 1875 propuso el nuevo género *Phytophthora* (del griego phyton-planta, phteiros-destructor).

De acuerdo con Alexopoulos y Mims (1985), la ubicación taxonómica de *Phytophthora infestans* es la siguiente:

Reino	Mycetae
División	Mastigomycota
Subdivisión	Diplomastigomicota
Clase	Oomycetes
Orden	Peronosporales
Familia	Pythiaceae
Género	<i>Phytophthora</i>
Especie	<i>Infestans</i>

Síntomas de la Enfermedad

La enfermedad puede presentarse en cualquier estado de crecimiento de la papa y cualquier parte de la planta puede ser afectada. La marchitez general es lo más común, caracterizada por una banda café oscuro del tallo la cual se extiende del suelo hacia arriba.

Agrios (1985) cita que los síntomas de la enfermedad en un principio toman la apariencia de manchas aguanosas circulares o irregulares y por lo común aparecen en las puntas o bordes de las hojas inferiores. En tiempo húmedo, las manchas se extienden con rapidez y forman zonas pardas y atizonadas que presentan bordes irregulares. Al nivel del borde de las lesiones en el envés de las hojas, se forma una zona blanca constituida por hifas del hongo. Poco después los folíolos son infectados mueren y se hacen flácidos. En condiciones prolongadas de humedad, todos los órganos tiernos y aéreos de las plantas se marchitan y se pudren con gran rapidez. El marchitamiento se debe a una secreción de toxinas del hongo y al taponamiento de los vasos conductores (Mendoza y Pinto, 1985).

En climas secos, las funciones del hongo se inhiben, las lesiones existentes dejan de extenderse, se ennegrecen, enrollan y marchitan, de ahí que el hongo ya no se desarrolle más en el envés de las hojas. Cuando retornan las condiciones favorables de clima, el hongo se reactiva, volviendo a reaparecer los síntomas y el progreso de la enfermedad. Cuando en un campo los síntomas de marchitez foliar avanzan con rapidez, llega a percibirse un olor característico, ligeramente acre, lo que constituye un aviso de que la enfermedad entró en una fase peligrosa (Walker, 1965).

Los tubérculos que han sido infectados muestran en un principio manchas más o menos irregulares y de un color parduzco o entre negro y púrpura. Cuando se cortan, el tejido afectado tiene apariencia aguanosa, presenta un color oscuro o un tanto pardo rojizo y se extiende de cinco a quince mm en la pulpa del tubérculo; más tarde, las zonas afectadas adquieren una cierta firmeza, se secan y reabsorben en un cierto grado. Dichas lesiones pueden ser pequeñas o bien pueden comprender casi toda la superficie del tubérculo sin que se extienda más adentro de este último. Sin embargo, la pudrición continua desarrollándose después de que los tubérculos han sido cosechados y algunas veces durante el almacenamiento.

Posteriormente los tubérculos infectados pueden ser invadidos por hongos y bacterias secundarios que producen pudriciones blandas, dándole a las papas podridas un olor desagradable y putrefacto.

Epidemiología

El desarrollo epidémico del tizón tardío depende en gran parte del efecto que tiene la humedad y la temperatura sobre los distintas etapas del ciclo de vida del hongo. Reddick y Mills (1938) reportaron que la infección en el campo es mas efectiva en presencia de bajas temperaturas y alta humedad, sin embargo puede realizarse bajo un amplio rango de condiciones ambientales.

Los esporangios de esta especie son extremadamente sensibles a la desecación. Cuando la humedad relativa cae muy por debajo del 100 por ciento, los esporangios mueren en unas pocas horas (Walker, 1965). En presencia de agua, el esporangio

germina, ya sea directamente, mediante un tubo de germinación que penetra por el estoma e infecta la hoja, o por medio de zoosporas. Los esporangios son capaces de germinar dentro de un amplio rango de temperatura, desde 1.5 hasta 24°C. No obstante, por encima de los 20°, los esporangios pierden su viabilidad de una a tres horas en aire seco, y de cinco a 15 horas en aire húmedo. La germinación de los esporangios sólo se produce cuando hay rocío o un cierto volumen de agua sobre las hojas de las plantas y dentro del rango de temperatura comprendido entre 10 y 15 °C, puede concluir al cabo de media hora o dos como máximo.

Una vez que los esporangios han germinado, se requiere de un período de dos a dos horas imedia a una temperatura que va de 15 a 25 °C para que se produzca la penetración de los tubos germinales en los tejidos del hospedero. Después de haber penetrado en los tejidos, el micelio del hongo se desarrolla con mayor rapidez dentro del rango de temperaturas de 17 a 21 °C, el cual es también óptimo para que pueda esporular (Agrios, 1985). Favorece la germinación abundante de esporangios una humedad del 100 por ciento y temperatura de 16 a 22 °C (Alexopoulos *et al.*, 1985).

Wallin (1962) en Estados Unidos de Norteamérica, sugiere que existen condiciones para la infección cuando se registra 90 por ciento o más de humedad relativa, en 10 horas con temperaturas entre 15 y 25 °C, ó 12 horas con temperaturas entre 12.5 y 15 °C, ó 14 horas con temperaturas entre 7.2 y 11 °C. Todo esto siempre y cuando la temperatura máxima durante las siguientes 24 horas no exceda de 35 °C. El desarrollo del hongo en diferentes medios de cultivo artificiales, según Crosier (1934), es óptimo con temperaturas de 21 °C, pero admite que entre 18 y 24 °C también es favorable. Las temperaturas críticas son de tres ó 30 °C.

Ciclo Biológico

Agrios (1985) y Villarreal (1972) mencionan que el hongo pasa el invierno en forma de micelio en tubérculos infectados. El micelio se dispersa en el tejido del tubérculo hasta llegar a las yemas o brotes y cuando estos tubérculos son plantados en condiciones favorables, al emerger la planta el micelio se propaga hacia el tallo a nivel de la región cortical, dando como resultado el colapso de las células de esa zona. Más tarde el micelio se desarrolla entre las células medulares del tallo, produciendo esporangióforos que emergen a través de los estomas de las hojas y del tallo y se proyectan fuera de ellos.

Los esporangios que se forman sobre los esporangióforos se desprenden y son diseminados por la lluvia y viento cuando han llegado a la madurez (Hirst y Stedman, 1965). Al depositarse sobre las hojas o tallos húmedos, los esporangios germinan y producen nuevas infecciones. El tubo germinal penetra la cutícula de la hoja o entra a través del estoma y forma un micelio que crece profusamente entre las células, el cual envía largos haustorios enrollados hacia el interior de ellas. Las células en las que el micelio se nutre tarde o temprano mueren y conforme empiezan a degradarse, el micelio del hongo se propaga periféricamente en los tejidos carnosos de las hojas.

Al cabo de unos cuantos días después emergen nuevos esporangióforos a través de los estomas de las hojas, produciendo numerosos esporangios. En condiciones de humedad, los esporangios son arrastrados de las hojas y transportados hacia el suelo, infectando a los tubérculos por medio de las zoosporas que han sido liberadas y que germinan, y penetran en ellos a través de heridas o lenticelas.

En clima favorable, el período comprendido entre la aparición de la infección y formación de los esporangios puede durar tan sólo cuatro días y como consecuencia, pueden producirse en una sola estación de crecimiento nuevas infecciones y numerosas generaciones sexuales del hongo (Barr y Désaulniers, 1990).

Reproducción

El hongo *Phytophthora infestans* puede presentar el tipo de reproducción tanto asexual como sexual. Se reproduce asexualmente, en forma indirecta por zoosporas, o directamente por los esporangios. Los esporangios pueden germinar directamente mediante la producción de un tubo germinativo, o indirectamente produciendo un número variable de esporas, llamadas zoosporas cuando son flageladas y esporangiosporas cuando no lo son. El tipo de germinación está considerablemente regulado por la temperatura, las temperaturas bajas favorecen la producción de zoosporas; las temperaturas más altas, la producción de un tubo de germinación.

La temperatura óptima para la germinación directa (mediante tubo de germinación) es de 24 °C; en tanto que para la germinación indirecta es de 12 °C. Las zoosporas nadan en la película de agua durante 15 minutos a alta temperatura (24°) y hasta 24 horas cuando la temperatura es más baja (12°). Una vez que las zoosporas entran en reposo, se enquistan y germinan, cada una mediante un tubo germinal.

El tubo germinal produce un apresorio, órgano hifal aplanado, adherido a la superficie, a partir del cual se forma una diminuta cuña de infección que se clava y penetra en la célula epidérmica del huésped (Pristou y Gallegly, 1954).

El estado sexual es citado por primer vez por Clinton (1911), reportando la obtención de oosporas en medio de cultivo puro. En 1959 Graham *et al.*, reunieron 104 aislamientos o cepas de *Phytophthora infestans* provenientes de varias partes del mundo, incluyendo cuatro de México, e hicieron todas las combinaciones posibles, encontrando que tres de las cepas mexicanas formaban oosporas con las cepas restantes por lo que concluyeron que *Phytophthora infestans* es una especie heterotálica. A su vez Gallegly y Galindo (1958-1960), reafirman tal sugerencia mencionando que el hongo requiere líneas sexuales diferentes, y puesto que cada núcleo de *Phytophthora infestans* ha heredado potencialidad para la formación de los dos sexos (oogonio y anteridio), es evidente que ésta es controlada por factores de compatibilidad, denominándose A-1 al cosmopolita y A-2 al que sólo ha sido hallado en México. La reproducción sexual tiene lugar por conjugación de anteridios y oogonios de tipos de apareamiento opuestos, el anteridio en desarrollo es atravesado por el oogonio, que crece a través de él, llegando a formar una oospora (Pethybridge y Murphy, 1913), en caso contrario puede continuar su ciclo asexual formando esporangios en los tejidos infectados para luego liberar zoosporas y continuar infectando plantas. Las oosporas pueden servir como estructuras de resistencia que al ciclo siguiente germinan e infectan tejido susceptible para iniciar un nuevo ciclo (Gallegly y Galindo, 1958; Ramírez y Romero, 1980; Alexopoulos *et al.*, 1985).

CIP (1993) menciona que lo que más preocupa a los científicos agrícolas es que la nueva variante (A-2), representa un problema de mayor grado e intensidad:

Primero, es más agresiva porque causa epidemias más severas de la enfermedad y en etapas más tempranas del cultivo.

Segundo, desarrolla resistencia al fungicida Metalaxyl con más facilidad.

Tercero, las esporas que resultan de la recombinación sexual, llamadas oosporas, sobreviven en estado latente en el suelo durante años e incrementan los niveles de inóculo. Esta característica significa una adaptación más rápida al ambiente y a las medidas de control. Las oosporas pueden infestar al suelo y prolongar por años la permanencia del tizón tardío, considerando que "La persistencia de las oosporas puede ser desastrosa".

En cuarto lugar, algunas variantes del hongo pueden atacar papa y tomate al mismo tiempo, y esto dificulta aún más el control.

Razas Fisiológicas

Las razas de *Phytophthora infestans* han sido una de las barreras sobre las que se han concentrado los esfuerzos de los genetistas para lograr variedades mejoradas de papa, con alto nivel de resistencia al hongo. Según Salaman (1949), los primeros intentos para resistencia se iniciaron en 1851 entre variedades de *Solanum tuberosum*, pero la resistencia obtenida no duró mucho tiempo. En 1930 se habían logrado clones con un nivel de resistencia aceptable.

Al intervenir *Solanum demissum* como portador de genes de resistencia, se pensó resuelto el problema, pero los clones obtenidos fueron atacados por nuevos biotipos. Esta habilidad patogénica, puso de manifiesto la existencia de razas fisiológicas.

Variedades logradas por Reddick *et al.* (1938) en Estados Unidos que se comportaban como resistentes en ese país, fueron susceptibles en el valle de Toluca. Al transcurso del tiempo a las nuevas variedades les sucedió el mismo fenómeno, llegándose a la conclusión de que *Phytophthora infestans*, como ya desde 1919 se había sospechado, es capaz de cambiar su poder patógeno, formando por mutación u otros mecanismos nuevas razas fisiológicas (Graham *et al.*, 1959).

La prueba final de esta hipótesis fue lograda por Black (1954), Mills *et al.* (1952), quienes mediante cruces con *Solanum demissum* sintetizaron una serie de diferenciales en base a cuatro genes mayores de resistencia (R1, R2, R3, R4). La incorporación de estos genes en todas las combinaciones posibles dio como resultado una serie compuesta de 16 clones, los cuales constituyen la serie de diferenciales que se utilizan para separar a 16 razas fisiológicas de *Phytophthora infestans*. La designación de las razas se adaptó a la nomenclatura internacional propuesta por Madison en 1953; la cual corresponde al genotipo que es capaz de atacar. Así, si una cepa pura ataca al diferencial R4 solamente, esta raza se designa como raza cuatro.

Mills y Niederhauser (1953), De la Fuente (1955), mencionan que en México se encuentran todas las razas del hongo conocidas.

Mecanismos de Resistencia

En general, las plantas contrarrestan el ataque de los patógenos ya sea mediante características estructurales que actúan como barreras físicas e impiden que el patógeno penetre y se propague en ellas, o por medio de reacciones bioquímicas que tienen lugar

en sus células y tejidos, las cuales producen sustancias tóxicas para el patógeno o crean condiciones que inhiben su desarrollo (Gaüman, 1954 y Akai, 1959; Nelson 1973).

Las plantas de papa presentan dos tipos de resistencia al tizón tardío: resistencia vertical o monogénica que está dirigida contra razas específicas del patógeno y se debe a la condición hipersensitiva del protoplasma, originada por la presencia de genes mayores y el otro tipo es llamado resistencia poligénica, horizontal o de campo; en este caso cualquier raza del hongo puede infectar al hospedante, pero el período de incubación se alarga, la esporulación es escasa y las hojas mas viejas y cercanas al suelo son las que se ven afectadas. En esta forma las plantas no son seriamente dañadas (Niederhauser *et al.*, 1956).

La reacción de las plantas de papa con genes dominantes hacia las razas para las cuales son resistentes, es una pequeña mancha necrótica, la cual ha sido llamada reacción de hipersensibilidad. La principal diferencia entre resistencia y susceptibilidad, parece ser la reacción y la velocidad de la célula susceptible a la hifa invasora del patógeno. En variedades resistentes el patógeno puede penetrar la pared celular, pero tan pronto como el haustorio hace contacto con el protoplasma de la célula huésped, el núcleo de ésta se desplaza hacia el sitio de penetración y en poco tiempo se desintegra y aparecen en el citoplasma gránulos pardos, primero en torno al patógeno, después por todo el citoplasma, simultáneamente ocurre un engrosamiento de la pared celular.

Conforme aumenta la coloración café del citoplasma de la célula hospedera éste se torna denso y se inicia la necrosis celular, las hifas invasoras se degeneran paulatinamente y al mismo tiempo sus núcleos se desintegran y forman una masa

homogénea. En la mayoría de los casos las hifas no sobrepasan esta fase y se detiene la infección.

El tipo de defensa necrótica o hipersensitiva es bastante común en hongos. Al parecer, los tejidos necróticos aíslan al parásito obligado de las sustancias vivas (de las cuales depende por completo para nutrirse, crecer y propagarse), lo cual conduce a su inanición y muerte. La hipersensibilidad, en el caso del tizón, ha sido atribuida a la infiltración de las células susceptibles por compuestos fenólicos o fitoalexinas.

Las fitoalexinas son sustancias fungitóxicas que las plantas producen en cantidades apreciables sólo después de haber sido estimulados por ciertos microorganismos, o bien después de haber sufrido daños causados por agentes químicos o mecánicos que inhiben el desarrollo de la planta misma. Las fitoalexinas incluyen varios compuestos tales como la ipomeamarona, el orquinol, la pisatina, la faseoalexina y la risitina (Agrios, 1985).

Müller y Börger (1940), demostraron por primera vez la existencia de estas sustancias en experimentos sobre relaciones parásito-hospedero entre algunas variedades de papa y razas del hongo del tizón *Phytophthora infestans*. Inocularon plantas resistentes de papa con zoosporas del hongo y obtuvieron una respuesta rápida, la cual consistía en la muerte de las células hospedantes antes del establecimiento del hongo, es decir, hubo una reacción de hipersensibilidad. De éstas y otras observaciones, Müller y Börger postularon que dicha respuesta es debida a la formación de sustancias fungitóxicas a las que llamaron fitoalexinas. Las fitoalexinas producidas por la planta de papa son: ácido clorogénico, risitina, faseolina, fituberina.

Es probable que cuando más rápido mueran las células del hospedero después de haber sido infectadas, se haga más resistente a esa infección (Agrios, 1985).

Niederhauser *et al.* (1954) concluyeron que la resistencia específica al tizón tardío no provee suficiente protección en ambientes mexicanos. Es notorio que la resistencia, determinada por genes R en las variedades de papa, es vencida por nuevas razas del hongo, por lo que en la actualidad casi todo el mejoramiento genético está basado sobre la resistencia general, que dependiendo de un mayor número de factores ofrece más estabilidad de las variedades y menos peligro de pérdidas sorpresa.

Se ha sabido que esta resistencia existe en las ESS y ha sido usada en mejoramiento genético por mucho tiempo, sin embargo, es difícil lograr a la vez transferir suficiente grado de resistencia general a variedades y que también sean aceptables en otros aspectos.

Según Niederhauser y Mills (1953), Black y Gallegly (1957), investigando la resistencia de un número elevado de formas de *Solanum demissum* y otras especies de este género, encontraron altos niveles de resistencia mostrando que su composición heterocigota permitía controlar la enfermedad.

Así, todas las formas de resistencia en las que se excluye la reacción de hipersensibilidad, puede considerarse como resistencia a campo o poligénica. Esto puede explicarse como un complejo, debido a características morfológicas y/o fisiológicas de la planta que permiten mayor tolerancia a la invasión, y que confieren resistencia a todas las razas (Hodgson, 1962).

Según Schaper (1951) la resistencia parcial es debida a un mayor período de incubación del patógeno. Black *et al.* (1957), Heidrick (1960), Jeffrey *et al.* (1962), Knutson (1962), Thurston *et al.* (1962), Van Der Zaag (1959), encontraron que la resistencia parcial se caracteriza por el mayor tiempo que toma el patógeno para penetrar y producir la infección. Esta resistencia esta fuertemente influenciada por las condiciones ambientales, variación de la virulencia del patógeno, concentración del inóculo, temperatura, humedad relativa, fertilidad del suelo y edad de la planta.

Lapwood (1961) cita que variedades tardías son más resistentes que las tempranas, mencionando que el hongo avanza muy lentamente en ellas y la producción de esporas es menor. Destaca que la infección en los cultivos no depende solamente de la susceptibilidad de huésped, si no también de los factores que controlan la persistencia de las gotas de agua, así, entre otros, la naturaleza de la superficie de la hoja, el tipo de crecimiento de la planta y el tipo de follaje de las plantas (compacto o abierto). La resistencia poligénica resulta más difícil de estudiar, puede variar cuantitativamente en diferentes selecciones y no permite fácilmente un análisis genético. Más sin embargo, Guzmán (1964), Guzmán, Thurston y Heidrick (1966) indican que puede conocerse el tipo de resistencia de una variedad determinando el tiempo que toma el patógeno en producir micelio y en esporular. Otra manera de conocer la resistencia es por el tamaño y calidad de la lesión.

Genética de la Resistencia

A menudo es difícil determinar de la literatura si los investigadores trabajaron con resistencia general o específica. El modo de herencia de tal resistencia tiende a ser de

primera consideración, una segunda es si la reacción al tizón fue una reacción hipersensitiva. Esto generalmente es considerado como una evidencia o simple resistencia heredada.

En los últimos años ha cobrado mucho interés el estudio de la resistencia a campo. Se basa en la estabilidad de los genotipos para oponerse al ataque de diferentes razas del patógeno. En experimentos sobre mejoramiento de las variedades de papa, la resistencia de campo al tizón está caracterizada por una variación continua, de modo que su herencia se atribuye a un sistema poligénico,

Black *et al.* (1953) y Malcolmson (1969) desarrollaron una prueba en hojas aisladas apropiada para asegurar la resistencia de campo al tizón de la papa y más tarde Müller y Haigh (1953), demostraron que los genes que daban esta propiedad eran aritméticamente aditivos en algunos casos.

Las conclusiones de los autores anteriores establecen que la resistencia al tizón en las variedades cultivadas es heredado como un carácter recesivo, probablemente controlado por genes múltiples, esto es, herencia cuantitativa.

Black (1954) declaró genéticamente hablando, la resistencia en el campo es presumible que es controlada por una serie de genes menores, los cuales determinan el grado de susceptibilidad en las variedades y la extensión de la necrosis en forma inmune de campo. En contraste con la inmunidad de campo, la resistencia de campo da protección parcial contra todas las razas especializadas del parásito.

Black y Gallegly (1957) definieron resistencia de campo (general) como todas las formas de resistencia heredada que poseen las plantas con excepción de hipersensibilidad que es controlada por genes R. También declararon "en casos extremos, la resistencia poligénica sola, puede ser suficientemente grande para producir resistencia a sus descendientes bajo pruebas en condiciones normales". Subsiguientemente, Black (1960) definió resistencia de campo (general) como el grado de resistencia exhibido por una planta hacia todas las razas de parásitos capaces de causar más que una reacción hipersensitiva.

Graham (1962) estudió la heredabilidad de la resistencia general en *Solanum verrucosum* y concluyó que la resistencia fue heredada en una base cuantitativa. Toxopeus (1959, 1961) también encontró que el grado de resistencia de campo (general) parece ser gobernado por una serie de genes menores.

Simmonds y Malcolmson (1967) probaron cerca de 100 clones de *S. andigena*, los cuales fueron sometidos a infestación del hongo en campo durante tres generaciones de selección natural usando las razas 1, 2, 3, 4, 5 y 7; los resultados demostraron que los clones presentaron altos niveles de resistencia general, concluyendo que no hay genes de R (resistencia específica) en *S. andigena*. A su vez Estrada (1954) reportó que Algodona y cultivares de *S. andigena* tuvieron buen grado de resistencia general.

Hawkes (1958) afirma, la resistencia a campo se presenta en variedades comerciales de *S. tuberosum*, incluyendo subespecies de *S. andigena* pero la mayoría es encontrada en las especies silvestres mexicanas.

Niederhauser (1986), Coffey *et al.* (1983) y Sarasola *et al.* (1975), citan que la resistencia horizontal es estable a largo plazo, algunos cultivares comerciales europeos, como Alpha, Varan, Ackersegen, Epoca y americanas como Arenaca, Emmot, Kennebec, Merrimac, Saco, Sebago, etc. han mostrado cierto nivel de resistencia que ha persistido más o menos constante por un período de casi 60 años.

Este tipo de resistencia parcial o de campo se ha observado durante más de 10 años en Tibaitatá Colombia, en la Colección Central Colombiana (CCC), principalmente sobre las especies de *Solanum tuberosum* L. y *Solanum phureja* Juz. et Buk (Thurston *et al.*, 1962). Large (1940) menciona resistencia general en Champion, cultivado en Irlanda por más de 10 años. Müller y Haigh (1953) y Müller (1953) encontraron que Champion tuvo un alto nivel de resistencia general en campo y laboratorio. Bonde *et al.* (1940) citan que President y Sebago han sido desarrolladas por un período de 10 años en el condado Aroostook, sin evidencia de pérdida de resistencia general.

La población de especies silvestres en México (Mesa Central) tiene un nivel alto de resistencia horizontal, la cual les ha permitido sobrevivir por miles de años a pesar de estar anualmente expuestas al ataque de un gran complejo de razas de *Phytophthora infestans.*, razón por la que todas las partes del mundo donde se llevan programas de mejoramiento en papa están interesados en germoplasma mexicano como fuente de resistencia (Niederhauser y Cervantes 1956; Niederhauser 1962; Cervantes 1965).

Por la búsqueda de una resistencia más estable y más útil, Fitopatólogos y genetistas de todo el mundo han regresado al lugar de origen de las especies de papa resistentes al tizón tardío, esto es México (Niederhauser, 1986).

Hospederos del Hongo

Hirst y Stedman (1965) mencionan que *Phytophthora infestans* fue encontrada en Nueva Zelanda en especies silvestres de *Solanum* y que en Inglaterra se le aisló de *Petunia hybrida* y de *Datura stramonium*, también de hojas de *Solanum nigrum* que se hallaban a la sombra, y de hojas seniles de *Solanum dulumara*.

Crosier (1934) hace mención de algunas especies de papa que son hospederas de *Phytophthora infestans*:

Solanum ajuscoense

Solanum anditenum

Solanum antipovicsii

Solanum bulbo castanum

Solanum cardifillum

Solanum demissum

Solanum tuberosum

Fisiología del Patógeno y Producción de Inoculo

Goth (1981) y Miller (1955) mencionan que los aislamientos de *P. infestans* pueden ser mantenidos en medios de semilla de maíz y en jugo V8 Agar, los cuales están considerados como los medios que más se adaptan a los requerimientos nutricionales del hongo para mantener su virulencia.

Masago *et al.* (1977) mencionan que el medio para separar especies de *Phytophthora spp* es papa dextrosa agar agregando Benomil, Nystatin, PCNB, Rifampicim, y Ampicillin dando buenos resultados al aislar especies del género *Phytophthora spp* y *Pythium spp*.

Para la producción de esporangios se colocan discos de micelio en cajas petri con una dilución de agua destilada estéril y colesterol. Las cajas se incuban a una temperatura de 18 ± 2 °C por 6 días con luz y oscuridad alternada. La liberación de las zoosporas se estimula incubando las cajas a 10 C°por 45 a 60 minutos, y posteriormente son liberadas al someterlas a una temperatura de 25 ± 2 C° por 30 minutos (Conn *et al.*, 1991; Bolkan, 1985).

Las oosporas son producidas por apareamientos de cepas compatibles (A1 y A2), en medio de CV-8A enriquecido con β -sitosterol (.3 mg/15mm de medio), exponiéndolo a luz fluorescente por 1.5 h diarias por 8 días e incubándolo a 4 °C por 45 días, con lo cual se obtiene un 64 por ciento de germinación (Romero y Erwin, 1967).

Kroll *et al.* (1981) reportan que las inoculaciones con suspensión de zoosporas siempre causan mas enfermedad que las suspensiones de esporangios.

Hodgson (1962) recomienda para evaluar resistencia en laboratorio, se controle la concentración de inóculo y se usen hojas del mismo nivel de la planta y plantas de la misma edad. También Hodgson (1962) encontró correlación entre el porcentaje de infección en hojas inoculadas en laboratorio y el grado de resistencia de la planta en campo usando nueve variedades de papa.

Generalidades de Toxinas

Se definen como toxinas las sustancias elaboradas por organismos, especialmente microorganismos y que son nocivos o letales a macroorganismos (hombre, animales o plantas) a muy bajas concentraciones.

Graniti (1972) divide a las toxinas en 3 grupos:

- Toxinas microbiales: Toxinas producidas por microorganismos tales como hongos y bacterias.
- Toxinas vegetales o Fitotoxinas: Son producidas por hongos o plantas superiores.
- Toxinas animales o zootoxinas: Son los productos tóxicos de serpientes, peces y artrópodos.

En Fitopatología el concepto de toxina fue introducido por los trabajos de los botánicos, hermanos Tulasnes (1815-1885) y De Bary (1831-1888) quienes informan que la producción de sustancias tóxicas por algunos patógenos son las causantes de enfermedad; se incluyen las enzimas, toxinas, reguladores de crecimiento y polisacáridos (Graniti, 1972); con esta misma idea otros investigadores como Dimond y Waggoner (1953), consideran que una toxina es cualquier compuesto producido por un microorganismo que es tóxico a las plantas. El investigador que precisó el concepto de "toxina" dándole una mejor dimensión fue Gaumann (1954), quien confirmó la relación de la toxina con la enfermedad y señaló que a un microorganismo se le considera patogénico si produce sustancias capaces de penetrar al tejido del hospedero interrumpiendo su metabolismo.

Dickinson (1987) menciona que en teoría el término toxina puede referirse a cualquier producto del patógeno que es nocivo para el hospedero. En la práctica, se restringe por lo general a compuestos de bajo peso molecular que no atacan la integridad estructural de los tejidos de la planta pero afectan el metabolismo de ésta en alguna otra forma más sutil. Una definición útil es "un metabolito originado en el patógeno que participa en la enfermedad de la planta".

Dickinson (1987) Hace mención de dos propiedades de las toxinas:

- a).- Que son activas a concentraciones muy bajas
- b).- Que son móviles dentro de la planta y pueden, por lo tanto, actuar a distancia del sitio de infección.

Graniti (1972) considera algunas condiciones que debe de reunir una toxina para establecer que sea la causante de una enfermedad específica:

- Cuando se aplica a una planta susceptible a bajas concentraciones, producirá todos o casi todos los síntomas característicos de la enfermedad. Pero también puede ser que varias toxinas, cada una cause diferentes síntomas en una misma enfermedad.
- Toxina y patógeno tendrán similares efectos en el hospedero y las plantas inmunes o altamente resistentes serían poco afectadas por la toxina.
- La patogenicidad del organismo estaría correlacionada con su capacidad para producir la toxina (razas debilmente patogénicas producirán menos toxina).

Mecanismos de Acción de las Toxinas

La característica esencial de una toxina es que actúa directamente sobre los protoplastos vivos del hospedero y ocasiona daños considerables que incluso pueden destruir a las células de una planta. Algunas de ellas actúan como venenos protoplásmicos generales que afectan a muchas especies de plantas representativas de distintas familias; otras son tóxicas solo para algunas especies. Sin embargo las toxinas son substancias extremadamente venenosas aun cuando se encuentran a concentraciones muy bajas (Graniti, 1972).

Las toxinas dañan a las células hospederas al afectar la permeabilidad de su membrana celular o al inactivar o inhibir a las enzimas e interrumpir posteriormente sus reacciones enzimáticas correspondientes, propiciando algunas veces la deficiencia de un factor esencial para el desarrollo normal (Agrios, 1985).

Kuo *et al.* (1972) al estudiar la producción de toxinas en *H. carbonum*, *H. victoriae*, *Rhizopus spp.* observó que existe interferencia en la fijación de CO² y altera el ciclo del ácido tricarbóxico se alteraba.

En su investigación con *Rhizopus spp.* encontró que éste sintetiza ácido fumárico en el mesocarpio de ciertos frutos, el cual se transporta en forma de fumarato a los sitios de acción. Así es como el fumarato se convierte en ácido tartárico, el cual interfiere el ciclo de Krebs. En conclusión parece que el efecto primario de la toxina es en la membrana plasmática y los otros efectos observados son secundarios al daño de la membrana (Strobel, 1974).

Pringle y Scheffer (1967), mencionan que entre los efectos secundarios se encuentran:

- Incremento en la respiración, el cual es interpretado como intervención a través del sistema de oxidasas del ácido ascórbico y como posible desacople de procesos de oxidación y fosforilación.
- Inhibición de síntesis de proteínas, de materiales orgánicos y pérdida de electrolitos.

El hongo *Pericornia circinata* produce una sustancia tóxica específica, en medio de cultivo que se le conoce como toxina PC, que causa en las plantas susceptibles de sorgo una reducción en la síntesis de aminoácidos y uridina y un aumento marcado en la respiración, resultando que la toxina reduce el crecimiento del sistema radicular en diluciones de 1:50 por tiempos cortos hasta de 48 horas (Pringle *et al.* 1967). También para el caso de sorgo, Tripathi (1974) observó que al estar presente la toxina de *Collectotrichum graminicola*, *Fusarium moniliforme* y *Aspergillus flavus* en las semillas, ocurre una inhibición en la germinación.

Alternaria Kikuchiana, hongo que causa la mancha negra del peral japonés (*Pyrus serotina*), por acción de la toxina llamada AK realiza cambios en la membrana plasmática en células de peral susceptible. La respuesta inmediata de la toxina AK es el incremento en la pérdida de electrolitos, pérdida de la habilidad en la apertura de estomas y de la habilidad plasmolítica de la célula, inhibición de la germinación del polen y necrosis visible de muchos tejidos (Kasai, Otani, Kohmoto y Nishimura, 1975).

En cambio Pringle y Scheffer (1967), obtuvieron del mismo patógeno 3 toxinas similares llamadas fitoalternaria A, B, y C selectivas para variedades resistentes que ocasionan daños a los perales atacados por el hongo.

Efecto de la Resistencia a Toxina

Graniti (1972), en sus trabajos sobre resistencia a toxinas indican que ésta se basa en la habilidad de los tejidos resistentes en desactivar los compuestos tóxicos; otros autores como Wood *et al.* (1972) y Scheffer *et al.* (1961), dicen que la resistencia de las plantas a los compuestos tóxicos depende de la carencia de una unidad receptora o la falta de un sitio sensible a las toxinas en los tejidos resistentes.

Por lo menos en algunas de las enfermedades en las que el patógeno produce toxinas, la resistencia a la enfermedad es la misma que la resistencia a las toxinas. Sin embargo, aun no se ha dado una explicación satisfactoria acerca de esto.

Se sabe que la destoxificación de algunas toxinas, como es el caso del ácido fusárico, la piricularina etc. es un fenómeno bastante común en las plantas y que tiene una importante función en la resistencia a la enfermedad.

Las variedades resistentes metabolizan con gran rapidez esas toxinas o las combinan con otras sustancias para formar compuestos no tóxicos, con frecuencia la cantidad de estos compuestos es proporcional a la resistencia de la variedad vegetal a la enfermedad (Agrios, 1985).

Diferentes Condiciones Nutricionales para Producir Toxinas

Un factor importante en el medio de cultivo es el nivel nutritivo para la producción de toxinas, Graniti (1972), comprobó que la fuente de carbono influye mucho en la síntesis de toxina para *Fusicoccum amygdali*, así la producción de toxina es mayor cuando el medio contiene arabinosa, glucosa o sacarosa pero con medios que lleven maltosa, fructosa o xilosa, la producción del metabolito es muy baja, pero si al medio nutritivo de cultivo se le agregan trazas de cobre y manganeso su toxicidad aumenta.

Naef-Roth (1972), encontró que al aumentar la proporción de nitrógeno con relación al fósforo, las plantas de tomate exhiben mayor susceptibilidad a la acción del ácido fusárico.

Un estudio fisiológico de 25 especies de *Phytophthora* revelaron mucha uniformidad en sus características nutricionales, denotando óptimos crecimientos en medios que contenían NH₄ nitrogenado complementado con ácido fumárico (Leonian y Lilly, 1940).

Robbins (1937), Rosenbaum (1917) y Roncadori (1964) reportaron que *P. cactorum*, *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. citricola*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. drechsleri* y *P. infestans* requirieron la molécula intacta de tiamina, mientras que Schwinn (1959) cita que existe una preferencia general para glucosa, fructuosa manosa y xilosa.

La variación en la utilización de azúcares por algunos aislamientos está asociada parcialmente con el método de esterilización del medio.

Mckeen (1956) mostró que una sustancia tóxica para *P. fragariae* y *P. infestans* es formada en el medio al ser autoclaveado debido a la interacción de glucosa y algunos aminoácidos incluyendo a la asparagina, dando como resultado de la reacción un efecto muy marcado en la producción de toxina.

Términos Relacionados con Enfermedades de Toxinas

Existen muchos trabajos sobre toxinas producidas por microorganismos y la terminología se ha ampliado en función de la actividad biológica que produce el metabolito tóxico en su hospedera.

Es de observar que algunas toxinas pueden reproducir todos los síntomas de una enfermedad pero esto no es fundamento válido para que todas puedan hacerlo (Bollard y Matthews 1966). Los términos más comunes se presentan a continuación:

Vivotoxina.- Toxina producida por un hospedero infectado por un patógeno, la cual no es por sí misma el agente inicial de la enfermedad (Graniti, 1972; Ludwing, 1960 y Tarr, 1972).

Endotoxinas.- Compuestos tóxicos intracelulares formadas en las células bacterianas y que se libera hasta que la célula muere (Tarr, 1972).

Exotoxinas.-Toxinas extracelulares, las cuales se difunden de células bacterianas vivas (Tarr, 1972).

Patotoxinas.- De acuerdo con Wheeler y Luke (1963), son los compuestos que produce un patógeno y que son responsables de todos los síntomas de la enfermedad;

otros autores como Dickinson (1987), agrega que los síntomas de la enfermedad se manifiestan, esté o no presente el patógeno.

Actualmente se conocen dos categorías importantes de estas toxinas del hospedero, específicas (selectivas) y no específicas (no selectivas).

Principales Toxinas Hospedero-Específicas

Con este tipo de metabolitos tóxicos se ha ampliado mucho el campo del mejoramiento como una herramienta para la evaluación del material germoplásmico. Son llamados hospedero-específicas porque es tóxico solamente al hospedero del patógeno que lo ataca, no afecta a las plantas resistentes a bajas concentraciones, ni a las plantas no hospederas (Cuadro 2.1). Produce todos los síntomas de la enfermedad al igual que el patógeno (Pound *et al.*, 1951; Toussoun *et al.*, 1963).

Cuadro 2.1 Principales Toxinas Específicas del hospedero que causan enfermedad en las plantas (Dickinson, 1987).

TOXINA	PATOGENO	HOSPEDERO
Victorina	<i>H. victoriae</i>	Avena
Toxina T	<i>H. maydis</i> Raza T	Maiz
Helminthosporósido	<i>H. sacchari</i>	Caña de Azúcar
Toxina PC	<i>P. circinata</i>	Sorgo
Fitoalternarina	<i>A. kikuchiana</i>	Peral Japonés

Principales Toxinas no Hospedero-Específicas

Dickinson (1987), son las que tienen efectos sobre las especies vegetales distintas a las observadas en el hospedero natural (Cuadro 2.2). A éstas se les ha clasificado también como fitotoxinas, o productos de parásitos que inducen pocos o ninguno de los síntomas causados por el patógeno vivo (Strobel *et al.*, 1970 y Bollard *et al.*, 1966).

Dentro del grupo de toxinas no hospedero-específicas están varias producidas por las diferentes especies del género *Fusarium spp.* muy relacionadas con las enfermedades vasculares de las plantas, siendo ellas: *Fusarium solani*, *F. moniliforme*, *F. lateritum*, *F. niveum*, *F. vasifectum*, *F. nicotianae*, *Giberella fugikuroii*, *Alternaria solani*, (Menlikiev *et al.*, 1975; Pound y Stahmann, 1951).

Cuadro 2.2. Principales Toxinas no Específicas del hospedero que causan enfermedades en las plantas (Dickinson, 1987).

TOXINA	PATOGENO	HOSPEDERO
Fusicoccina	<i>Fusicoccum amygdali</i>	Almendro
Tentoxina	<i>Alternaria alternata</i>	Algodón
Otiobolina	<i>Helminthosporium oryzae</i>	Arroz
Tabtoxina	<i>Pseudomonas tabaci</i>	Tabasco
Faseolotoxina	<i>Pseudomonas phaseolicola</i>	Frijol

Gaumann (1954) informa que las toxinas de *Fusarium sp.* no atacan solamente al huésped específico, sino a una serie de especies de plantas mayor a las que ataca el patógeno vivo.

Ludwing (1960) en sus estudios sobre *Fusarium spp.* observó enzimas como la pectin-metil-esterasa asociada con el hongo causando enfermedades vasculares, por el taponamiento de los vasos al degradar los pectatos de las paredes celulares. Otro síntoma es la producción de etileno, provocando epinastia al follaje. Fulton *et al.* (1965), observó que el metabolito tóxico de *Alternaria tenuis* inhibe la producción de clorofila, ocasionando clorosis en plántulas de algodón, frijol, pepino, sandía y okra; no ocasionó los mismos síntomas en maíz y en tomate. Pero en todo caso, demostró que esta toxina es no hospedera-específica.

Producción de Toxina por *Phytophthora spp.*

Las lesiones que causan estos patógenos en las plantas después de penetrar el tejido es una necrosis y marchitamiento, la cual se atribuye al efecto de un metabolito tóxico producido por el hongo (Breiman y Baras, 1981; Stolle *et al.*, 1985).

Phytophthora citrophthora (Sm et Sm) Leonian causante de gomosis en el tronco, collar y pudrición de la raíz, damping-off y raíz café de *Citrus spp.* se reportó con filtrado de alto y bajo peso molecular, componente fitotóxico no específico, caracterizado como compuesto ácido capaz de inhibir la elongación radical de las semillas del limón germinado, inhibiendo el desarrollo de la radícula y causando síntomas de marchitamiento en plántulas de limón (Breiman *et al.*, 1981).

Phytophthora megasperma Dreschsl. var. *sojae* Hild. agente causal de pudrición del tallo de la soya, caracterizada por un rápido marchitamiento de plantas infectadas, la cual produce una toxina bastante tóxica causante del taponamiento de los vasos y colapso total (Paxton, 1972).

Phytophthora nicotianae, B. de Haan var. *parasitica* (Dast.) Waterch. secreta un metabolito tóxico diluible y fácilmente absorbible, causa manchas necróticas marginales e intervenales sobre las hojas, consideradas como sustancias macromoleculares responsables de la toxicidad (Ballio y Gianani, 1972).

Estudios en progreso ponen en claro la naturaleza química de los componentes activos, existiendo evidencia de que más de una toxina está presente en los filtrados del cultivo de *Phytophthora parasitica* y de que por lo menos una de ellas es un polisacárido.

Toxina de *Phytophthora infestans*

La posibilidad de obtener plantas resistentes a enfermedades con residuos de fitotoxinas hospedero-especificas fueron demostradas por aplicaciones de filtrados de *Phytophthora infestans* a tejidos de papa (Behnke, 1979).

Behnke y Lönnendonker (1977) encontraron que las suspensiones de células de papa fueron muertas cuando se depositaron en presencia de la dilución 50 partes del filtrado de *Phytophthora infestans*, como comparado con la dilución de 2.5 partes del filtrado requerido para matar tejido de callos o para causar síntomas fitotóxicas sobre las hojas de las plantas.

Stolle *et al.* (1982) citan que en pruebas de resistencia, la toxina de *Phytophthora infestans* dañó únicamente las hojas de *Solanum tuberosum* y no de otras Solanaceas o plantas representativas de otras familias. El efecto del daño de la toxina está, por lo tanto, restringido a las especies de *Solanum tuberosum*.

Behnke (1979) menciona que *Phytophthora infestans* produce un metabolito tóxico, el cual se caracteriza por ser termoestable e insoluble en solventes orgánicos, de peso molecular alrededor de 20,000.

Stolle *et al.* (1984) probó la toxina en discos de tubérculo de papa, reportando la respuesta como un cafesamiento de las células, granulación del contenido citoplásmico y engrosamiento áspero autofluorescente dentro del área de la pared de la célula, atribuible a la descomposición, lignificación y la acumulación de fitoalexinas.

Una toxina secretada por *Phytophthora infestans* en cultivo líquido fue purificada por ultrafiltración y su efecto fue examinado en pruebas con hojas, resultando necrosis y marchitamiento dentro de tres días, así como también una drástica reducción de peso de hojas nuevas, contenido de clorofila y muerte de la hoja completa después de cinco días (Stolle y Schöber, 1985)

Stolle *et al.* (1985) detectó una toxina en el tejido del tubérculo de papa después de la inoculación con *Phytophthora infestans*, reportando el mismo efecto que una toxina excretada en cultivo líquido, produjo una reacción necrótica y la acumulación de fitoalexinas en el tejido del tubérculo.

Otras investigaciones

A partir de la exposición de células de *Citrus* al filtrado y su posterior regeneración de protoplastos es posible el desarrollo de plantas resistentes a fitotoxinas de *P. citrophthora* (Vardi *et al.*, 1975; Vardi *et al.*, 1976).

Wheeler y Pirone (1975), han empleado la toxina de *Helmintosporium victoriae* en la selección de variedades de avena (*Avena sativa*) resistentes al hongo, con igual propósito, Tripathi (1974), utilizó la toxina *Pericornia circinata* para obtener variedades de sorgo (*Sorghum vulgare*) resistentes a dicho hongo.

Sanabria (1977) realizó estudios en donde usó el filtrado tóxico del cultivo de *Alternaria carthami*, conteniendo el metabolito tóxico específico y el propio patógeno en plantas de cártamo en laboratorio e invernadero, para evaluar la resistencia de las variedades a la mancha de la hoja, reportando que la sustancia tóxica afecta la respiración y disminuye la sobrevivencia en las plantas, por lo que se ha considerado el método más eficiente.

Salinas (1979) evaluó la resistencia de variedades de tomate (*Lycopersicum esculentum*) a *Alternaria solani*, empleando el filtrado tóxico de este hongo, encontrando que es factible el uso de metabolitos tóxicos para selección de variedades resistentes.

Trapaga (1980) evaluó la resistencia de 12 materiales de trigo (*Triticum aestivum* L.) a *Fusarium culmorum* empleando el filtrado tóxico del hongo, reportando que es factible el uso del filtrado para evaluar resistencia en materiales genéticos.

MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se llevó acabo en el Campo Experimental INIFAP Emiliano Zapata e Instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro".

Aislamiento, Purificación y Conservación del Hongo

Phytophthora infestans

Se colectaron plantas con síntomas típicos del hongo *Phytophthora infestans* causante del tizón tardío de la papa, en diferentes lotes del Campo Experimental INIFAP Emiliano Zapata, posteriormente se aislaron siete cepas en el Laboratorio de Parasitología de la UAAAN.

Los tallos y hojas infectadas se lavaron con agua corriente, se cortaron en pequeños trozos, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1 por ciento por espacio de tres minutos, se lavaron tres veces con agua destilada estéril para eliminar el exceso de cloro; se pusieron a secar en papel destrasa estéril, se sembraron en medio V-8 Agar con antibióticos (Colimicin 200 ppm, Penicilina 400 ppm, Micostatin 600 ppm ó bien 150 ppm de Pimaricina/500 ml y 100 ppm de Polimixina), para evitar el crecimiento de contaminantes como hongos y bacterias (Miller, 1955). En cada caja de medio V-8 se colocaron de cuatro a cinco piezas de tejido y se dejaron en incubación por diez días a una temperatura controlada de 18-22°C.

La purificación del hongo se verificó mediante transferencias de micelio a cajas petri con V-8 Agar libre de antibióticos. Una vez purificado se procedió a identificar al hongo en base a sus características taxonómicas (Ho, 1981). Posteriormente el hongo se guardó en frascos Gerber con agua estéril y granos de maíz para conservar viabilidad y virulencia (Goth, 1981).

Preparación del Inóculo de *Phytophthora infestans*

El patógeno se propagó en jugo V-8 Agar; se incubó por espacio de diez días a 22 °C. Se transfirieron siete discos de micelio de 0.5 cm de diámetro a cajas petri con una solución de 0.001 por ciento de colesterol soluble en agua. Las cajas se colocaron a una temperatura de 18 °C por seis días, éstas se dejaron sin sellar para permitir una buena aereación y estimular así la producción de esporangios. La liberación de las zoosporas se estimuló incubando las cajas a 5 °C por espacio de 60 minutos y enseguida exponiéndolas a temperatura ambiente (25 °C). Una vez liberadas las zoosporas, la suspensión se transfirió de las cajas a tubos de ensaye, donde se estimó la concentración de zoosporas con un hematocimetro y se ajustó a 25,000 zoosporas/ml (Bhatia y Young, 1985).

Pruebas de Agresividad de los Aislamientos de *Phytophthora infestans*

Se realizaron pruebas de agresividad de los siete aislamientos. Tres hojas de la variedad Alpha se colocaron en cada caja petri, provistas de papel filtro húmedo, cada hoja se inoculó con cuatro gotas de una suspensión de 25,000 zoosporas/ml.

Subsiguientemente las cajas se cubrieron y se incubaron a 18 °C bajo luz directa de barras. Cinco días después se seleccionaron las cepas (EZ1 y EZ4) que presentaron el mayor porcentaje de daño para las pruebas siguientes. El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar con tres repeticiones, transformando cada uno de los datos tomados, por medio de la fórmula Arco seno = $\sqrt{\text{proporción}}$.

Preparación de Filtrado Tóxico

Para la preparación de filtrado tóxico de *Phytophthora infestans* se utilizó el medio líquido Xuang, Xu & Wang (Strange *et al.* 1982) adecuado para la estimulación del metabolito tóxico. El medio se ajustó a pH 5.5, y se esterilizó por filtración con filtros Milipor de 0.22 micras.

Se transfirieron cinco discos de micelio (.5 cm de diámetro) del cultivo en V-8 Agar de cada cepa seleccionada de *Phytophthora infestans* (EZ1 y EZ4), a cada matraz de 500 ml conteniendo el medio antes mencionado. Posteriormente los matraces se incubaron por 15 días a una temperatura de 18-22 °C bajo condiciones de baja iluminación y agitación constante para estimular el desarrollo del hongo. Enseguida se dejó en reposo para permitir la producción del metabolito tóxico por 21 días.

Pasado este período, se procedió a filtrar el medio nutritivo, utilizando para esto un embudo Buchner, acoplado a un matraz Kitasato, el cual va conectado a una bomba de vacío; se filtró de tres a cuatro veces a través de dos espesores de tela manta de cielo y papel filtro Whatman No.1; ya obtenido el filtrado tóxico libre de residuos, se procedió a esterilizar por medio de filtros Milipore de 0.45 micras y 0.22 micras.

El medio se almacenó en refrigeración a 5 °C para su posterior utilización (Strange *et al.*, 1982).

Evaluación de la Toxicidad del Filtrado

Se sembraron tubérculos de la variedad Alpha en macetas de diez kg de capacidad (dos por maceta). 30 días después de la siembra se desprendieron hojas de las plantas (folíolos) y se sumergió la base de éstas (peciolo) en 15 ml de filtrado tóxico, contenido en un tubo de ensaye. El efecto de la toxina se evaluó preparando concentraciones de filtrado, de 0 agua destilada (testigo), 25, 50, 75 y 100 por ciento. Las hojas se mantuvieron en estas condiciones y a temperatura de laboratorio (20-25 °C) por tres días. Transcurrido este tiempo se evaluó el porcentaje de marchitez de las hojas, en cada una de las concentraciones del filtrado. El establecimiento de este experimento se realizó bajo en un diseño completamente al azar con tres repeticiones y arreglo factorial, en donde el factor A correspondió a las concentraciones de filtrado tóxico y el B a las cepas (EZ1 y EZ4). Los resultados fueron analizados estadísticamente transformando los datos, por medio de la fórmula $\text{Arco seno} = \sqrt{\text{proporción}}$.

Establecimiento de Genotipos en Invernadero

Semilla tubérculo de los genotipos Atzimba, 676087, Norteña, 751259, 573272, 720088, Tollocan, 750936 y Alpha (colección UAAAN) fueron tratados con una solución compuesta (1 gr de Tecto, 3 ml de Furadan 350 L, 2 gr de Monseren diluidos en 1 lt de agua).

Los materiales a evaluar se sembraron en macetas de polietileno, de 10 kg de capacidad que contenían una mezcla de arena, materia orgánica y perlita. Por cada maceta se sembraron tres tubérculos para dejar posteriormente dos plantas por maceta.

Se aplicó un riego después de la siembra y posteriormente, cada tercer día o según los requerimientos del cultivo.

Para el control de plagas que se presentaron como la Mosquita blanca (*Trialeurodes vaporariorum*), se hicieron aplicaciones de Endosulfan y Lazer a dosis comercial.

Evaluación de Resistencia de Genotipos de Papa

Inoculación con Suspensión de Zoosporas

Cuatro semanas después de la siembra se desprendieron tres folíolos de cada uno de los genotipos de papa, se colocaron en cámaras húmedas (charolas de plástico con papel húmedo sobre el que se colocó una malla plástica). Cada una de las hojas se inoculó con cuatro gotas de una suspensión de 25,000 zoosporas/ml preparadas como se describió anteriormente. Las charolas con las hojas inoculadas se cubrieron con una bolsa de plástico, se incubaron a 18 °C bajo luz directa de barras.

Cinco días después de la inoculación, se evaluó el número de lesiones y porcentaje de área foliar enferma en cada una de las hojas cuando el testigo, variedad Alpha, presentó un 25, 50 y 100 por ciento de daño.

Exposición a Filtrado Tóxico

Se desprendieron tres hojas por genotipo de papa, se depositaron en cámaras húmedas, cada hoja se inoculó con cuatro gotas de filtrado tóxico con la concentración óptima. Cinco días después se evaluó el número de lesiones y porcentaje de área foliar enferma.

Diseño Experimental y Análisis Estadístico

El diseño utilizado fue un completamente al azar con arreglo combinatorio de tres factores. Genotipos como factor A, Métodos de evaluación de resistencia como factor B, Cepas como factor C; contando con tres repeticiones.

Para determinar la severidad de la enfermedad, cada genotipo se clasificó dentro de la escala propuesta por Guzmán (1964).

AR= Altamente resistente (0-20 % de daño)

R = Resistente (20-40 % de daño)

I = Moderadamente resistente (40-60 % de daño)

S = Susceptible (60-80 % de daño)

AS= Altamente susceptible (80-100 % de daño)

RESULTADOS

Aislamientos de *Phytophthora infestans*

Se aislaron siete cepas de *Phytophthora infestans*, provenientes de plantas de papa con síntomas típicos de tizón tardío. Encontrando gran diversidad en forma de la colonia en V-8 Agar y crecimiento del micelio. Los aislamientos se identificaron con las claves EZ1, EZ2, EZ3 al EZ7.

Agresividad de los Aislamientos de *Phytophthora infestans*

Se observaron diferencias significativas en severidad de la enfermedad causada por las cepas evaluadas (Cuadro 4.1). Al efectuar la prueba de comparación de medias DMS ($\alpha = 0.05$), se encontró que las cepas EZ1 y EZ4 produjeron el mayor número de lesiones y porcentaje de área foliar enferma, los demás aislamientos se presentaron con diferencia mínimas en cuanto al porcentaje de daño causado en hojas de la variedad Alpha (Cuadro 4.2).

Evaluación de la Toxicidad del Filtrado

El análisis de varianza para severidad, muestra diferencias significativas en porcentaje de marchitez, causado por las diferentes concentraciones de filtrado tóxico

(Cuadro 4.3). Al realizar la comparación de medias por la prueba de DMS, se deduce que al incrementarse la concentración de inóculo se aumentaba el porcentaje de marchitamiento (Cuadro 4.4).

La concentración que produjo en promedio resultados más altos de daño fue el 100 por ciento, obteniéndose con ello severidades superiores al 87 por ciento. Con el objeto de facilitar la medición del grado de marchitez, se selecciono finalmente una concentración de 75 por ciento.

Cuadro 4.1. Análisis de varianza para severidad del daño de siete cepas de Tizón Tardío (*Phytophthora infestans*) sobre el cultivar Alpha.

F.V.	G.L.	C.M.	F
Cepas	6	102.878906	3.1203 x
Error	14	32.965401	
Total	20		

C.V. = 7.82 %

Cuadro 4.2. Comparación de medias por DMS para severidad de tizón tardío causado por siete cepas (*Phytophthora infestans*) sobre el cultivar Alpha.

CEPAS	MEDIAS	X
EZ1	81.3867	A
EZ4	81.3867	A
EZ3	73.4000	AB
EZ7	71.9500	AB
EZ6	70.1100	B
EZ2	67.900	B
EZ5	67.4033	B

DMS % = 10.0557

X. Los tratamientos que poseen la misma letra, son estadísticamente iguales.

Cuadro 4.3. Análisis de varianza para cinco concentraciones de Filtrado Tóxico de las cepas EZ1 Y EZ4 de *Phytophthora infestans* sobre el cultivar Alpha.

F.V.	G.L.	C.M.	F
Factor A	4	7099.384766	623.1374 x
Factor B	1	6.105469	0.5359 NS
AxB	4	7.489258	0.6574 NS
Error	20	11.392969	

C.V. = 8.93%

Factor A: Concentraciones (0, 25, 50, 75, 100%)

Factor B: Cepas (E.Z.1 y E.Z.4)

Cuadro 4.4. Comparación de medias por DMS de la variedad Alpha de papa (*Solanum tuberosum*) tratada con cinco concentraciones de Filtrado Tóxico de las cepas EZ1 y EZ4 del hongo (*Phytophthora infestans*).

CONCENT	EZ1	X	EZ4	X
100 %	90.0000	A	85.6933	A
75 %	54.7500	B	53.8967	B
50 %	32.2067	C	31.0700	C
25 %	14.7600	D	16.6000	D
0 %	0.0000	E	0.0000	E

DMS % = 4.0725

X. Los tratamientos que poseen la misma letra, son estadísticamente iguales.

Evaluación de Resistencia de Genotipos de Papa

a *Phytophthora infestans*

El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas en cuanto a genotipos, los cuales presentaron diferentes grados de tolerancia y susceptibilidad según el método de evaluación.

Con respecto a las dos cepas no se detectaron diferencias significativas en incidencia y severidad de la enfermedad (cuadro 4.5).

Cuadro 4.5. Análisis de varianza para severidad ocasionado por *Phytophthora infestans* sobre foliolos y peciolos de papa.

F.V.	G.L	C.M.	F
Factor A	8	4050.99218	74.2167 xx
Factor B	1	3781.46875	69.2788 xx
Factor C	1	1.765625	0.0323 NS
AxB	8	3208.76172	58.7865 xx
AxC	8	122.14062	2.2377 x
BxC	1	31.609375	0.5791 NS
AxBxC	8	56.701172	1.0388 NS
Error	72	54.583332	

C.V.= 17.213917 %

Factor A: Genotipos (9)

Factor B: Métodos de Inoculación (Filtrado y Zoosporas)

Factor C: Cepas (E.Z.1 y E.Z.4)

Se procedió a realizar una comparación de medias por DMS con los promedios de porcentaje de severidad de los genotipos de papa sometidos al filtrado tóxico y suspensión de zoosporas por cada una de las cepas.

Como respuesta al filtrado y suspensión de zoosporas procedentes de la cepa EZ1, los porcentajes de severidad de los genotipos (Figura 4.1 y Cuadro 4.6) demuestran que los clones 676087 y 720088 resultaron sin diferencia significativa entre ellos tanto para filtrado como para zoosporas, resultando el clón 676087 altamente resistente y el clón 720088 resistente, la variedad Alpha se comportó altamente resistente al filtrado y susceptible para zoosporas, la variedad Tollocan y el clón 751259 resultaron moderadamente resistentes o intermedia al filtrado y resistente para zoosporas, la

variedad Norteña susceptible para filtrado y altamente resistente para zoosporas, la variedad Atzimba altamente susceptible para filtrado y altamente resistente para zoosporas. Los clones 573272 y 750936 presentaron mayor grado de susceptibilidad al filtrado que del resto de los materiales, y susceptibles para zoosporas.

Cuadro 4.6. Evaluación de resistencia de genotipos de papa a la exposición al filtrado tóxico y suspensión de zoosporas con la cepa E.Z.1 de *Phytophthora infestans*.

GENOTIPOS	FILTRADO	ZOOSPORAS
676087	AR	AR
Norteña	S	AR
750936	AS	S
Tollocan	I	R
751259	I	R
720088	R	R
Atzimba	AS	AR
Alpha	AR	S
573272	AS	S

AR = Altamente resistente

R = Resistente

I = Intermedia o moderadamente resistente

S = Susceptible

AS = Altamente susceptible

El clon 720088 se presentó resistente de la cepa EZ4, tanto para filtrado como zoosporas (Figura 4.2 y Cuadro 4.7), el clon 573272 resultó susceptible para ambas técnicas de inoculación, el clon 676087 y la variedad Alpha presentaron el mayor grado de tolerancia a la toxina. Por otra parte el clon 676087 resulto resistente a la inoculación con zoosporas y la variedad Alpha fue susceptible. La variedad Norteña respondió susceptible al filtrado y altamente resistente a las zoosporas, el clon 750936 altamente susceptible para filtrado e intermedia para zoosporas, la variedad Tollocan susceptible

para filtrado y resistente para zoosporas, el clon 751259 intermedio para filtrado y resistente para zoosporas, la variedad Atzimba altamente susceptible para filtrado y resistente para zoosporas.

Cuadro 4.7. Evaluación de resistencia de genotipos de papa a la exposición al filtrado tóxico y suspensión de zoosporas con la cepa E.Z.4 de *Phytophthora infestans*.

GENOTIPOS	FILTRADO	ZOOSPORAS
676087	AR	AR
Norteña	S	AR
750936	AS	I
Tollocan	S	R
751259	I	R
720088	R	R
Atzimba	AS	AR
Alpha	AR	S
573272	AS	S

AR = Altamente resistente

R = Resistente

I = Intermedia o moderadamente resistente

S = Susceptible

AS = Altamente susceptible

Dada la variabilidad entre resultados del porcentaje de daño a la exposición de filtrado tóxico e inoculación con suspensión de zoosporas, se efectuó un análisis de correlación. No se encontró relación entre la respuesta de resistencia a la toxina y a la inoculación con zoosporas.

Fig. 4.1 Efectos de la inoculación con filtrado y suspensión de zoosporas de *P. infestans* (EZ1) en genotipos de papa

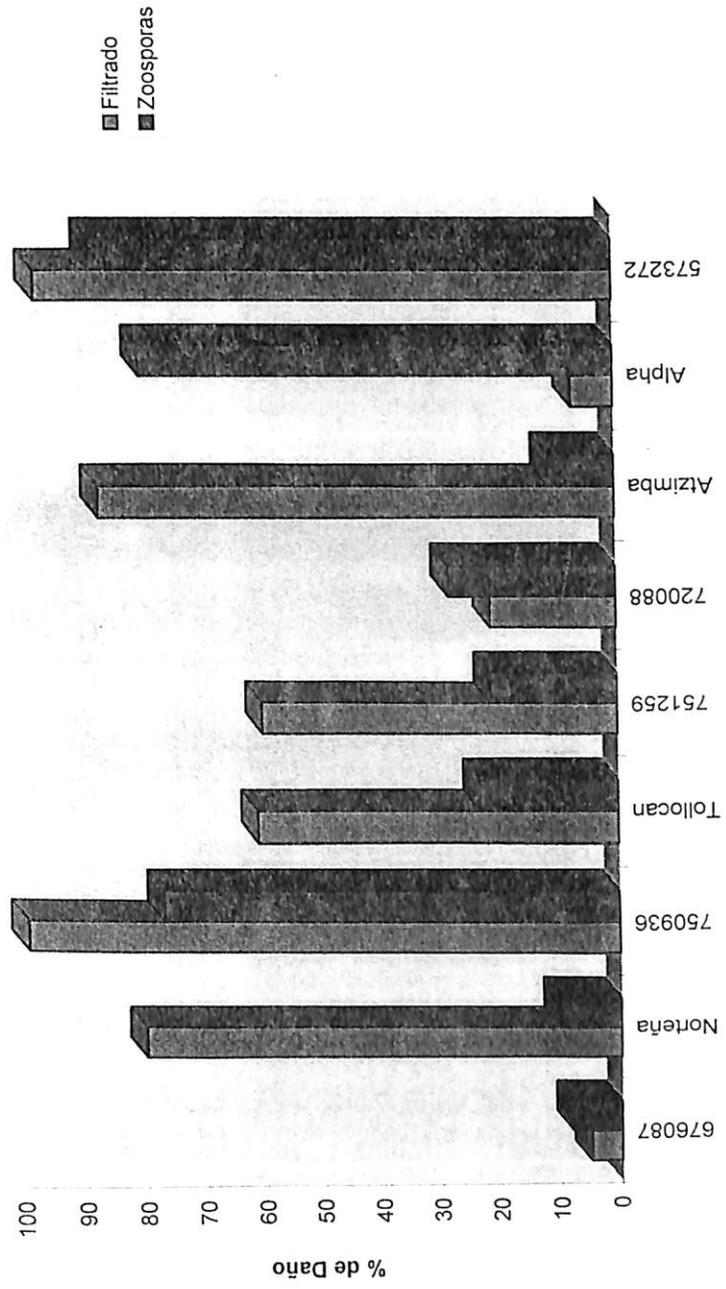
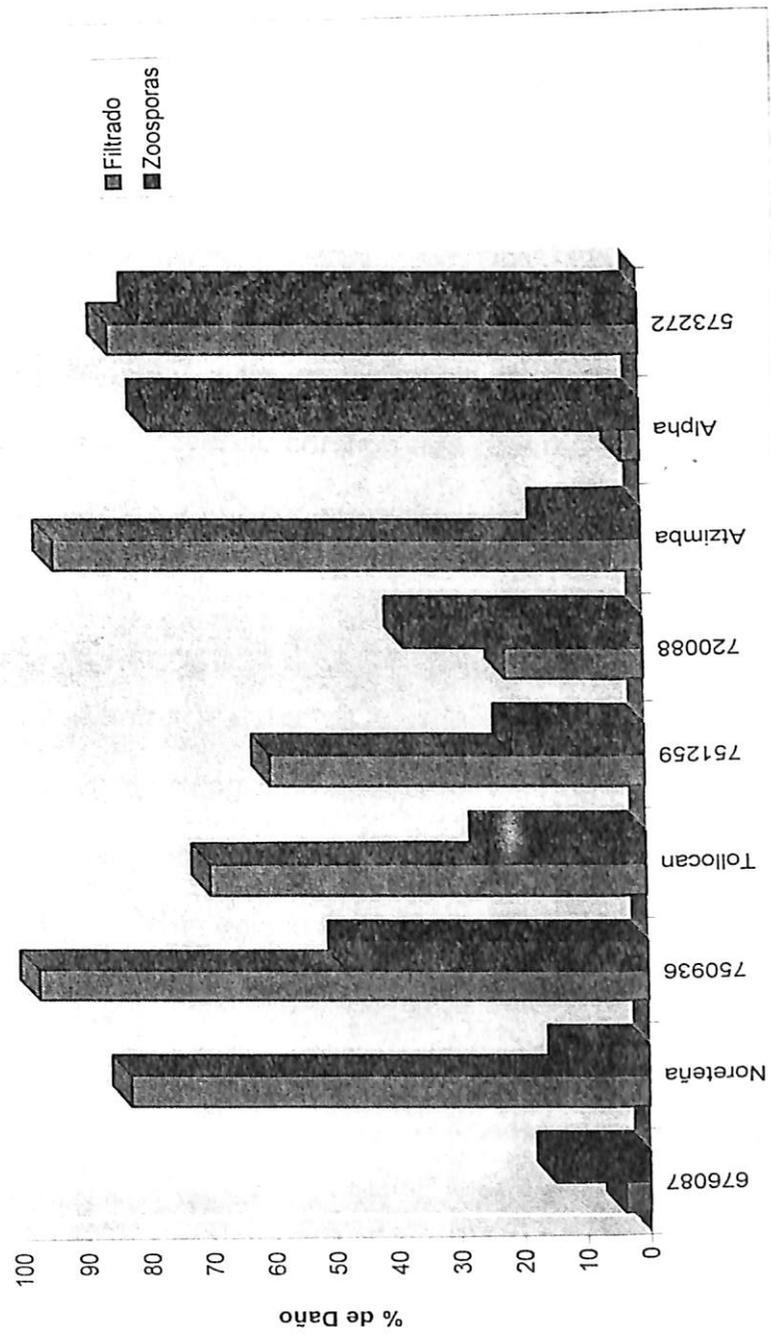


Fig. 4.2 Efecto de la inoculación con filtrado y suspensión de zoosporas de *P. infestans* (EZ4) en genotipos de papa



DISCUSION

El cultivo de filtrado de *Phytophthora infestans* causa necrosis, marchitamiento, granulación del contenido citoplasmico y un engrosamiento áspero de la pared celular; según Stoller y Schofer (1985), esto es atribuible a la descomposición de lignina y suberina de la pared celular, trayendo consigo una drástica reducción de peso de hojas nuevas, contenido de clorofila y por consiguiente una desorganización de la integridad de la membrana.

La selección de plantas resistentes a enfermedades, en base a su reacción a las toxinas producidas por fitopatógenos es un método que se ha utilizado con éxito en algunos patosistemas, tal como Ballio y Gianani (1972) emplearon la toxina de *Phytophthora nicotianae* en la selección de variedades de tabaco resistentes al hongo, con el mismo propósito, Breiman *et al* (1981) utilizo la toxina de *Phytophthora citrophthora* para obtener plantulas de limón resistentes a dicho hongo; Salinas (1979) evaluó la resistencia de variedades de tomate a *Alternaria solani*, empleando el filtrado tóxico del mismo hongo.

En el caso de la selección de genotipos de papa (*Solanum tuberosum*) resistentes a tizón tardío (*Phytophthora infestans*), este método de selección ha sido poco estudiado y por lo tanto se desconoce el potencial que puede tener en los programas de mejoramiento de la resistencia a la enfermedad.

En el presente estudio se evaluó la reacción de nueve genotipos de papa a la inoculación con zoosporas de dos cepas de *Phytophthora infestans* y al filtrado de cultivos líquidos de estas cepas. Seis de los genotipos (676087, 750935, Tollocan, 751259, 720088 y 573272) reaccionaron de manera similar al filtrado tóxico y a la inoculación con zoosporas. Dos genotipos (Norteña y Atzimba) fueron susceptibles al filtrado tóxico del hongo, pero resistentes a la inoculación con zoosporas; el caso contrario, es decir, resistentes al filtrado y susceptibles a zoosporas ocurrió en la variedad Alpha. Resultados similares fueron obtenidos por Stolle (1985) quien hace mención que la respuesta de los genotipos al filtrado tóxico en algunos casos no coincide con la respuesta de los genotipos a la infección natural.

La discrepancia entre la reacción al filtrado y zoosporas sólo puede explicarse si consideramos que existe más de un mecanismo de resistencia y que estos actúan de manera independiente. Por ejemplo Según Pérez (1991) la respuesta de resistencia de Norteña y Atzimba a la inoculación con zoosporas parece ser el resultado de genes mayores (R) que inducen la reacción de hipersensibilidad, evitando que el hongo colonice el tejido de la planta. En estos casos la reacción a la toxina no juega un papel importante en la resistencia a la enfermedad, a menos que la raza del hongo posea el gen de virulencia (v) que se acople al gen R para evitar la reacción de hipersensibilidad.

Los genotipos 676087, 750936, Tollocan, 751259, 720088 y 573272, no reaccionaron de manera hipersensible a la inoculación con zoosporas y el patógeno colonizó en mayor a menor grado el tejido de la planta. En estos casos, la velocidad de crecimiento del hongo y por lo tanto el grado de resistencia del genotipo parece depender de la capacidad de la planta de resistir a la acción de la toxina; si esta

interpretación de los resultados es correcta, evaluar la reacción de genotipos de papa a los filtrados tóxicos del hongo equivaldría a medir la resistencia a la colonización de los tejidos de la planta por el hongo, es decir mediríamos el grado de resistencia horizontal la cual se debe a la presencia de genes múltiples, los cuales dan resistencia a las diferentes razas fisiológicas del hongo.

El único genotipo que no se ajusta a la hipótesis mencionada anteriormente, es la variedad Alpha que resulto resistente al filtrado pero susceptible a la inoculación con zoosporas. Casos como este podría ocurrir cuando la toxina producida in vitro no sea equivalente a la producción en vivo, o bien cuando la resistencia de la planta a la toxina sea inhibida por productos del metabolismo resultantes de la colonización del tejido.

A su vez Dickinson (1987) menciona que un compuesto producido in vitro puede causar síntomas de enfermedad, no es, por si sola determinante, ya que no garantiza que el mismo compuesto sea producido en vivo toda esta evidencia indica que la toxina no es el único factor determinante de la enfermedad. Corroborando Moreau *et al* (1984) quien reporta en medio de cultivo la presencia de 2 polygalacturonasas, 4 galactonasas y 2 pectinerasas así como toxinas activas.

Los resultados de este estudio indican que los filtrados de cultivos líquidos de *Phytophthora infestans* podrían utilizarse para seleccionar in vitro o en vivo genotipos de resistencia horizontal al tizón tardío de la papa, aunque se deben tomar las precauciones necesarias para reconocer los casos en los que existe una relación directa entre la reacción al filtrado tóxico y a la inoculación con zoosporas, como sucedió en esta investigación con la variedad Alpha.

Es recomendable evaluar más extensivamente la relación entre la respuesta al filtrado tóxico y a la inoculación con zoosporas, para estimar la frecuencia en que ocurren discrepancias.

CONCLUSIONES

Las cepas Emiliano Zapata 1 y Emiliano Zapata 4 no se diferenciaron significativamente cuanto a porcentaje de daño.

Los genotipos 676087, 750936, Tollocan, 751259, 720088 y 573272 reaccionaron de manera similar al filtrado tóxico y a la inoculación con zoosporas. Norteña y Atzimba fueron susceptibles al filtrado tóxico pero resistentes a la inoculación con zoosporas y caso contrario Alpha resulto resistente al filtrado y susceptible a zoosporas.

La reacción de resistencia muestra que existen más de un mecanismo de resistencia y que actúan de manera independiente por ejemplo; Norteña y atzimba inducen reacción de hipersensibilidad manifestada por genes mayores y los genotipos 676087, 750936, Tollocan, 751259, 720088 y 573272 manifiestan presencia de genes múltiples y Alpha es resultado de una variedad expuesta por muchos años y en grandes extensiones al ataque de una gran población de razas del patógeno en constante evolución, o la toxina que se produce in vitro no es equivalente a la producida en vivo. La toxina puede utilizarse para seleccionar in vitro genotipos de papa con resistencia horizontal al tizón tardío, siendo recomendable evaluar más extensivamente la relación entre la respuesta al filtrado tóxico y a la inoculación con zoosporas, para estimar las frecuencias en que ocurren las discrepancias.

RESUMEN

La selección de plantas resistentes a enfermedades, en base a su reacción a las toxinas producidas por fitopatógenos es un método que se ha utilizado con éxito en algunos patosistemas. En el caso de la selección de genotipos de papa (*Solanum tuberosum*) resistentes a tizón tardío (*Phytophthora infestans*), este método de selección ha sido poco estudiado y por lo tanto se desconoce el potencial que puede tener en los programas de mejoramiento de la resistencia a la enfermedad.

En el presente estudio se evaluó la reacción de nueve genotipos de papa a la inoculación con zoosporas de dos cepas de *Phytophthora infestans* y al filtrado de cultivos líquidos de estas cepas. Seis de los genotipos (676087, 750935, Tollocan, 751259, 720088 y 573272) reaccionaron de manera similar al filtrado tóxico y a la inoculación con zoosporas. Dos genotipos (Norteña y Atzimba) fueron susceptibles al filtrado tóxico del hongo, pero resistentes a la inoculación con zoosporas; el caso contrario, es decir, resistentes al filtrado y susceptibles a zoosporas ocurrió en la variedad Alpha. La discrepancia entre la reacción al filtrado y zoosporas sólo puede explicarse si consideramos que existe más de un mecanismo de resistencia y que estos actúan de manera independiente. Por ejemplo la respuesta de resistencia de Norteña y Atzimba a la inoculación con zoosporas parece ser el resultado de genes mayores (R) que inducen la reacción de hipersensibilidad, evitando que el hongo colonice el tejido de la planta. En estos casos la reacción a la toxina no juega un papel importante en la resistencia a la enfermedad, a menos que la raza del hongo posea el

gen de virulencia (v) que se acople al gen R para evitar la reacción de hipersensibilidad. Los genotipos 676087, 750936, Tollocan, 751259, 720088 y 573272, no reaccionaron de manera hipersensible a la inoculación con zoosporas y el patógeno colonizó en mayor a menor grado el tejido de la planta. En estos casos, la velocidad de crecimiento del hongo y por lo tanto el grado de resistencia del genotipo parece depender de la capacidad de la planta de resistir a la acción de la toxina; si esta interpretación de los resultados es correcta, evaluar la reacción de genotipos de papa a los filtrados tóxicos del hongo equivaldría a medir la resistencia a la colonización de los tejidos de la planta por el hongo, es decir mediríamos el grado de resistencia horizontal.

El único genotipo que no se ajusta a la hipótesis mencionada anteriormente, es la variedad Alpha que resulto resistente al filtrado pero susceptible a la inoculación con zoosporas. Casos como este podría ocurrir cuando la toxina producida in vitro no sea equivalente a la producción en vivo, o bien cuando la resistencia de la planta a la toxina sea inhibida por productos del metabolismo resultantes de la colonización del tejido.

Los resultados de este estudio indican que los filtrados de cultivos líquidos de *Phytophthora infestans* podrían utilizarse para seleccionar in vitro o in vivo genotipos de resistencia horizontal al tizón tardío de la papa, aunque se deben tomar las precauciones necesarias para reconocer los casos en los que existe una relación directa entre la reacción al filtrado tóxico y a la inoculación con zoosporas, como sucedió en esta investigación con la variedad Alpha. Es recomendable evaluar más extensivamente la relación entre la respuesta al filtrado tóxico y a la inoculación con zoosporas, para estimar la frecuencia en que ocurren discrepancias.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. 1985. Fitopatología. Limusa. México. 756 pags.
- Akai, S. 1959. Histology of defense in plants, en "Plant Pathology" (J.G. Horsfall y Dimond, eds.), Vol. 1, págs. 391-434. Academic Press, New York. P. 391-434.
- Alexopoulos, C.J. y C.W. Mims. 1985. Introducción a la Micología. Editorial Omega. Barcelona. 638 p.
- Allar, R.W. 1980. Principios de la Mejora Genética de las Plantas. Ed. Omega. Barcelona, 4 ed. 498 p.
- Ballio, A., and L. Gianani (1972). Production of phytotoxins by *Phytophthora nicotianae* B. de Itaen var. *parasitica* (Dast.) Waterch. Laboratorio di Chimica delle Sostanze Naturali, Istituto Chimico, University of Naples, Italy. Phytotoxins in Plant Diseases. Academic Press. London. New York.
- Barr, D.J.S., and N.L. Désaulniers. 1990. The flagellar apparatus in the *Phytophthora infestans* zoospore. Can. J. Bot. 68: 2112-2118.
- Behnke, M. & N. Lönnendonker 1977. Isolation and partial characterization of phytotoxic substances from culture filtrates of the fungus *Phytophthora infestans*. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie 8:17-27.
- Behnke, M. 1979. Selection of potato Callus for resistance to Cultura Filtrates of *Phytophthora infestans* and regeneration of Resistant Plants, Theoretical and Applied Genetics 55:69-71.
- Bhatia, S.K., and R.J. Young. 1985. Reaction of potato tuber slices to *Phytophthora infestans* in relation to physiological age. Am. Potato J. 62: 471-478.
- Black, W., C. Mastenbroek, W.R. Mills and L.C. Peterson. 1953. A proposal for and international nomenclature of races of *Phytophthora infestans* and genes controlling immunity in *Solanum demissum* derivatives. Euphytica 2:173-179.
- Black, W. 1954. Late blight resistance work in Scotland. Amer. Potato Jour. 31: 93-100.
- Black, W., and M.E. Gallegly. 1957. Screening of *Solanum* species for resistance to physiologic races of *Phytophthora infestans*. Amer. Potato J. 34: 273-281.

- Bolkan, H.A. 1985. A technique to evaluate tomatoes for resistance to *Phytophthora root* in the greenhouse. *Plant Disease* 69:78-709.
- Bollard, E.G., and R.E.F. Matthews. 1966. The Physiology of Parasitic Disease. En *Plant Physiology* (F.C. Steward, Ed.) Academic Press. N.Y. IV: 417-522.
- Bonde, R., F.J. Stevenson, & C.F. Clark. 1940. Resistance of certain potato varieties and seedling progenies to late blight in the tubers. *Phytopathology* 30: 733-748.
- Breiman, A., & Barash, I. 1981. Partial characterization of phytotoxins in culture filtrates of *Phytophthora citrophthora*. *Phytopathologische Zeitschrift*, (in press).
- Breiman, A., and E. Galun. 1981. Plant protoplasts as tools in quantitative assays of phytotoxic compounds from culture filtrates of *Phytophthora citrophthora*. *Physiological Plant Pathology* 19: 181-191.
- Cásseres, E. 1966. Producción de Hortalizas. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA.
- Cásseres, E. 1981. Producción de Hortalizas. Edit. Herrero. 3 Ed. México. 381 p.
- Cervantes, J. 1965. Late blight resistance of nine Mexican potato varieties in ten years of field trials. *Amer. Potato J.* 42: 258 (Abstr.)
- CIP, 1993. Informe Anual del Centro Internacional de la Papa. Lima Perú.
- Clinton, G.P. 1911. Oospores of potato Late blight fungus *Phytophthora infestans*. *Conn. Univ. Storrs. Agri. Exp. Sta. Ann. Rept.* 1909-1910. p. 753-774.
- Coffey, M.D., and U.E. Wilson. 1983. An ultrastructural study of the late-blight fungus *Phytophthora infestans* and its interaction with the foliage of two potato cultivars possessing different levels of general (field) resistance. *Can. J. Bot.* 61: 2669-2685.
- Conn, K.E., W.D. Gubler, S.M. Mircetich and J.K., Hasey. 1991. Pathogenicity and relative virulence of nine *Phytophthora spp.* from Kiwifruit. *Phytopathology* 81:974-979.
- Csinos, A., and J.W. Hendrix. 1976. Toxin produced by *Phytophthora cryptogea* active on excised tobacco leaves. *Can. J. Bot.* 55: 1156-1162.
- Crosier, W. 1934. Studies in the biology of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, N.Y. *Cornell Agr. Exp. Sta. Mem.* 155 p.
- De Bary, A. 1875. Researches into the nature of potato fungus *Phytophthora infestans*. *J. Roy. Agric. Soc. England. Ser. 2.* 12:239-269.
- DGEA, 1981. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. Dirección General de Estudios Agrícolas. SARH. México.

- Dickinson, C.H. 1987. Patología Vegetal y Patógenos de Plantas. Editorial Limusa. México D.F. 312 p.
- Dimond, A.E., and P.E. Waggoner. 1953. The cause of epinastic symptoms in Fusarium wilt in tomatoes. *Phytopath.* 43:229-235.
- Edmon, J.B., and T.L. Seen. 1967. Principios de Horticultura 3a Edición. Compañía Editorial Continental, S.A. México, D.F. 575 p.
- Estrada R., N. 1954. Mejoramiento genético de la papa en Colombia, para resistencia a la "gota" causada por *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary. *Agricultura Tropical* 10:51-57.
- Fuente, J. De La, 1955. Razas fisiológicas de *Phytophthora infestans* de la papa en México. IPN. Tesis. 44 pp.
- Fernández P., S.P. 1985. Caracterización de la resistencia en diversos clones de papita güera (*Solanum cardiophyllum* y *ehrenbergii* (Bitt) al ataque de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Tesis M.C., Colegio de Posgraduados. Chapingo México.
- Frank, J.A., and S.K. Francis. 1976. The effect of *Rhizoctonia solani* Phytotoxin on potatoes. *Can. J. Bot.* 54(22): 2536-2540.
- Fulton, N.D., K. Bollenbacher and G.E. Templeton. 1965. A metabolite from *Alternaria tenuis* that inhibits chlorophyll production. *Phytopathology.* 55:49-51.
- Gallegly, M.E., and J. Galindo. 1958. Mating types and oospores of *Phytophthora infestans* in nature in México. *Phytopathology* 48: 274-277.
- Galindo A., J., and M.E. Gallegly. 1960. The nature of sexuality in *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 50: 123-128.
- García, R.A. 1959. Horticultura. Salvat editores, S.A. Barcelona, Madrid.
- Gaümann, E. 1954. Toxinas y enfermedades de las plantas. *Endeavour.* 13:198-204.
- Goth, R.W. 1981. An efficient technique for prolonged storage of *Phytophthora infestans*. *Am. Potato J.* 58: 257-260.
- Graham, K.M., Niederhauser, J.S., and Romero, S. 1959. Observations on races of *Phytophthora infestans* in México during 1956-1957. *Am. Potato Journal.* 36:196-203.
- Graham, K.M. 1962. Inheritance of partial resistance to *Phytophthora infestans* in *Solanum verrucosum* Schlecht. *Amer. Potato J.* 39: 391 (Abst.)

- Graniti, A. 1972. The evolution of the toxin concept in plant pathology. En: Phytotoxine in Plant disease (R.K.S. Wood, A.B. Ballio y A. Graniti, Eds.) Academic Press N.Y. pp. 15.
- Guzmán, J. 1964. Nature of partial resistance of certain clones of three *Solanum* species to *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 54: 1398-1404.
- Guzmán N., J., H.D. Thurston y L.E. Heidrick. 1966. Métodos de selección para resistencia parcial a *Phytophthora infestans* en el invernadero. *Amer. Potato J.* 43: 35-42.
- Harris, P.M. 1978. The potato crop. Department of Agriculture and Horticulture reading. University London Chapman. Hall, New York. pp. 703
- Hawkes, J.G. 1944. Potato collecting expedition in México and South America. II Systematic classification of the collections. Cambridge, England, Imperial Bureau of Plant Breeding and Genetics. Technical communication no. 9. 142 pp.
- Hawkes, J.G. 1944. The story of the potato. *Bull* 38-46.
- Hawkes, H.G. 1958. Significance of wild species and primitive forms for potato breeding. *Euphytica* 7:257-270.
- Hawkes, J.G. 1978. History of the potato. pp. 1-8. In: Harris PM (Ed). *The Potato Crop*. London, Chapman an Hall.
- Heald, I.A. 1933. *Manual of plant diseases*. Ed. Mc. Graw Hill Inc.
- Heidrick, L.E. 1960. The late blight disease of potatoes in Colombia. Ph.D. Thesis, West Virginia University.
- Hirst, J.N., and O.J. Stedman. 1965. The epidemiology of *Phytophthora infestans*. *Ann. Appl. Biol.* 48: 471-517.
- Ho, H.H. 1981. Synoptic keys to the species of *Phytophthora*. *Micologia.* 73:705-714.
- Hodgson, W.A. 1962. Studies of the nature of partial resistance in the potato to *Phytophthora infestans* in Mexico. *Amer. Potato J.* 39: 8-13.
- INEGI, 1995. *El Sector Alimentario en México*. Edición 1995. Impreso en México.
- Jeffrey, S.I.B., J.L. jinks and M. Grindle. 1962. Itraracial variation in *Phytophthora infestans* and field resistance to potato blight. *Genetica* 32: 323-338.
- Kassai, T., H. Otani, K. Kohmoto and S. Nishimura. 1975. Nature of specific susceptibility to *Alternaria kikuchiana* in nijisseiki cultivar among japanesse pears. IV Target tissues of *Alternaria kikuchiana* toxin and their characteristic responses.

Journal of the Faculty of Agricultura. Tottori University Japon. 10(6-14)
Resumen tomado de Rev. Plant Pathol. 56(3) 1977.

- Knutson, K.W. 1962. Studies on the nature of field resistance of the potato to late blight. *Am. Potato, J.* 39:152-161.
- Kroll, R.E., and C.J. Eide. 1981. Effect of inoculum concentration of *Phytophthora infestans* on potato late blight. *Am. Potato J.* 58: 153-161.
- Kuo, M.S., and R.P. Scheffer. 1967. Comparative effects of *Helminthosporium carbonum* and *Helminthosporium victoriae* toxin on susceptible tissue. *Phytopath.* 57:817-818.
- Lapwood, D.H. 1961. Laboratory assessments of the susceptibility of potato haulm to blight (*Phytophthora infestans*). *Potato Res.* 4: 117-128.
- Large, E.C. 1940. The advance of the fungi. Henry Holt & Co., N.Y. 488 p.
- Leonian, L.H., and V.G. Lilly. 1940. Studies on the nutrition of fungi. IV. *Amer. J. Bot.* 27: 18-26.
- Ludwing, R.A. 1960. *Toxins on Plant Pathology.* Horsfall, J.G. and A.E. Dimond (Editores). Vol. II Academic Press N.Y. and London. 314-357.
- Maas, E.V. 1984. Crop Tolerance. *En: California Agriculture* Vol. 38(10): 20-21.
- Macolmson, J.F. 1969. Factors involved in resistance to blight (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) in potatoes and assessment of resistance using detached leaves. *Ann Appl. Biol.* 64: 461-468.
- Maiero, M., G.A. Bean and J. Ng. 1991. Toxin production by *Alternaria solani* and its related phytotoxicity to tomato breeding lines. *Phytopathology* 81:1030-1033.
- Masago, H., M. Yoshikawa, M. Fukada, and H. Nakanishi. 1977. Selective inhibition of *Pythium spp.* on a medium for direct isolation of *Phytophthora spp.* from soils and plants. *Phytopathology* 67:425-428.
- Mckeen, W.E. 1956. An interaction product of glycine and dextrose toxic to *Phytophthora fragariae*. *Science* 123:509.
- Menlikiev, M.Y., and M. Imamova. 1975. Metabolites of *Fusarium oryzae* F. *vasintectum* and their role in the infection process. *IZB. Akad Nauktadsk Sshotd Biol. Nauk:* 39-45. *Resumen de Biol. Abst.* 61(2).1976.
- Mendoza, Z.C. y C.B. Pinto. 1985. *Principios de Fitopatología y enfermedades causadas por hongos.* U.A. de Chapingo. México. 311p.
- Messian, C.M. 1979. *Las Hortalizas.* 1a Ed. Mundi Prensa Impreso en España. 755 p.

- Miller, P.M. 1955. V-8 juice agar as a general purpose medium for fungi and bacteria. *Phytopatology* 45:461-462.
- Mills, W.R., and L.C. Peterson. 1952. The development o races of *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary on potato Hybrids. *Phytopathology*. 42: 26-28.
- Mills, W.R., and J.S. Niederhauser. 1953. Observations on races of *Phytophthora infestans* in México. *Phytopathology* 43: 454-455.
- Montaldo, A. 1984. Cultivo y Mejoramiento de la Papa. Instituto Iteramericano de Cooperación para la Agricultura. San José de Costa Rica. 676 pp.
- Moreno, V. 1970. Physiological investigations of the potato plant with special reference to the effect of diferent environments, phinthesis. Cornell Univ.
- Mosqueda, C.G., M.J.M. De la Fuente, G.A. Jofrey y E.L. Herrera. 1991. Estrategias para generar plantas resistentes a toxinas de origen bacteriano. Primer Simposio Nacional de Biología Molecular en la Investigación Agrícola. Celaya, Gto. 130 p.
- Müller, K.O. 1953. The nature of resistance of the potato plant to blight-*Phytophthora infestans*. *J.Nat. Inst. Agr. Bot.* 6:346-360.
- Müller, K.O., and H. Börger. (1940). Experimentelle Untersuchungen über die *Phytophthora*-Resistenz der Kartoffel; zugleich ein Beitrag zum Problem der "erworbenen Resistenz" in Pflanzenreich. *Arb. Biol. Reichsanst. Land-Forstwirtsch., Berlin-Dahlem* 23:189-231.
- Müller, K.O., and J.C. Haigh. 1953. Nature of "field resistance" of the potato to *Phytophthora infestans* de Bary. *Nature* 171: 781-783.
- Naef-Roth, S. 1972. Production and biosynthesis of phytotoxins. En *Phytotoxins in Plant Diseases* (R.K.S. Wood, A. Ballio y A. Graniti, Eds.). Academic Press New York pp. 49-70.
- Nelson, R.R. 1973. The use of resistance genes to curb population shifts in plant pathogens. In: R.R. Nelson, (ed.). *Breeding Plants for Disease Resistance. Concepts and Applications*. Pennsylvania St. Univ. Press. pp 49-66.
- Niederhauser, J. S., and W.R. Mills. 1953. Resistance of *Solanum species* to *Phytophthora infestans* in México. *Phytopathology* 43: 456-457.
- Niederhauser, J. S., J. Cervantes, and L. Servin. 1954. Late blight in México. *America Potato Jour.* 31:233-237.
- Niederhauser, J. S., & J. Cervantes. 1956. Maintenance of field resistance to *Phytophthora infestans* in potato selections. *Phytopathology* 46: 22(Abstr.)

- Niederhauser, J.S. 1962. Evaluation of multigenic "field resistance" of the potato to *Phytophthora infestans* in 10 years of trials at Toluca, México. *Phytopathology* 52: 746 (Abstr.)
- Niederhauser, J.S. 1986. Tizón tardío de la papa en México, su lugar de origen y de la solución. *Revista Mexicana de Fitopatología* 4:31-36.
- Parga T., V.M. 1989. Nuevas variedades de papa resistentes al tizón tardío para el sur de Coahuila y Nuevo León. Resúmenes, de primera demostración agrícola para productores de papa. Saltillo., Coahuila. (SARH-FIRA). p. 6-9.
- Paxton, J.D. 1972. Toxin production by *Phytophthora megasperma* Drechsl. var. *sojæ* Hild. Department of Plant Pathology, University of Illinois, Urbana, Illinois 61801, U.S.A. *Phytotoxins In Plant Diseases*. Academic Press. London, New York.
- Pethybridge, G.H., P.A. Murphy. 1913. On pure cultures of *Phytophthora infestans* (Mont) De bary an the development of oospores. *Sci. Proc. Roy. Dublin. Soc. N.S.* 13: 566-588.
- Pound, G.S., and M.A. Stahmann. 1951. The production of a toxic material by *Alternaria solani* and its relation to the early blight disease of tomato. *Phytopathology*. 41: 1104-1114.
- Pristou, R., and M.E. Gallegly. 1954. Leaf penetration by *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 44:81-86.
- Pringle, R.B., and P. Scheffer. 1967. Host-specific plant toxins. *Ann. Rev. Phytopathology* 2:133-152.
- Ramirez, V.J. y C.S. Romero. 1980. Supervivencia de *Phytophthora capsici* Leo; agente causal de la marchitez del chile. *Agrociencia* 39:9-18.
- Reddick, D. 1932. Some diseases of wild potatoes in México. *Phytopathology* 22: 609-612.
- Reddick, D., and W. Mills. 1938. Building "Virulence" in *Phytophthora infestans*. *A. Pot. Jour.* 15: 29-34.
- Richards, L.A. 1954. *Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils*. Handbook No. 60. U.S.D.A., U.S.A.
- Robbins, W. J. 1937. The assimilation by plants of various forms of nitrogen. *Amer. J. Bot.* 24: 243-250.
- Romero, S., and D.C. Erwin. 1967. Genetic recombination in germinated oospores of *Phytophthora infestans*. *Nature* 215: 1393-1394.
- Romero, C.S. 1988. *Hongos Fitopatógenos*. U.A. Ch. México. 360 p.

- Roncadori, R.W. 1964. A nutritional comparison of some species of *Phytophthora*. *Phytopathology* 55: 595-599.
- Rosenbaum, J. 1917. Studies of genus *Phytophthora*. *J. Agr. Res.* 7: 233-376.
- Ross, H. 1986. Potato Breeding-problems and perspectives. *Adv. in Plant Breeding. Supplement 13. J. of Plant Breeding.* pp. 11-18.
- Salaman, R.N. 1949. *The History and Social Influence of the Potato.* Cambridge, University Press, 685 p.
- Salinas G., S.A. 1979. Evaluación de la resistencia de seis variedades de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) a *Alternaria solani* (Ell y G. Martin) L.R. Jones y Grout empleando el filtrado toxico del hongo. Tesis sin publicar. Ins. Tecnol. Est. Sup. Mty. Mex.
- Sanabria, A.N. 1977. Evaluación de la resistencia de 6 variedades de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) empleando el filtrado tóxico de *alternaria carthami*. Tesis profesional ITESM.
- SARH, INIFAP, CIFAP, 1989. Primera demostración agrícolas para productores de papa. (Res). Campo Experimental Sierra de Arteaga. Coahuila Mexico. 200 p.
- Sarasola, A.A. y Ma. A. Roca de Sarasola. 1975. Fitopatología. Curso moderno tomo II tizón tardío de la papa y del tomate. Ed. Hemisferio Sur. pp. 374.
- Schaper, P. 1951. Die Bedeutung der Inkubationszeit für die Zuchtung krauffauleresistenter Kartoffelsorten. *Ztschr. Pflzucht.* 30: 292-299.
- Scheffer, R.P., and R.B. Pringle. 1961. A selective toxin produced by *Pericorni circinata*. *Nature.* 191:912-913.
- Schwinn, F.J. 1959. Untersuchungen Zur Systematik der Gattung *Phytophthora* de Bary. *Arch. Microbiol.* 33:223-252.
- SEP, 1984. Manuales para educación agropecuaria. Papas. Ed.Trillas. México. pp. 54.
- Simmonds, N.W., & J.F. Malcolmson. 1967. Resistance to late blight in Andigena potatoes. *Europes Potato J.* 10:161-166.
- Stolle, K. & B. Schöber, 1982. Neve Methode zur Kulfur von *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Flüssigmedien. *Potato Research* 25: 273-276.
- Stolle, K. & B. Schöber, 1984. Wirkung eines Toxins von *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary aut Katoffelknollengewebe. *Potato Research* 27: 173-184.
- Stolle, K. & B. Schöber, 1985. Nachweis eines Toxins im Kartoffelknollengewebe nach Inokulation mit *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Potato Research* 28: 193-201.

- Stolle, K. & B. Schöber, 1985. Wirkung eines Toxins von *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary auf Kartoffelblätter. *Potato Research* 28: 389-402.
- Strange, R.N., D.J. Pippard and Gary A. Strobel. 1982. A protoplast assay for phytotoxic metabolites produced by *Phytophthora drechsleri* in culture. *Physiological Plant Pathology* 20:359-364.
- Strobel, G.A. 1974. Phytotoxins produced by plants parasites. *Ann. Rev. Microbiol.* 25:541/566.
- Strobel, G.A., and D.E. Mathre. 1970. Out lines of plant pathology. Van Nostrand Reinhold Co., New York. pp. 314-318.
- Tamaro, D. 1980. Manual de Horticultura. Editorial Gustavo Gili, S.A., Barcelona.
- Tarr, S.A. 1972. Principles of Plant Pathology. Wingchster. Press. 632 p. (229-241).
- Thurston, H.D., L.E. Heidrick and J. Guzmán-N. 1962. Partial resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary within the Colección Central Colombiana. *Amer. PotatoJ.* 39: 63-69.
- Thoussoun, T.A., and Z.A. Patrick. 1963. Effect of phytotoxic substances from decomposing plant residues on root rot of Bean. *Phytopathology* 53:265-270.
- Toxopeus, H.J. 1959. Notes on the inheritance of field resistance of the foliage of *Solanum tuberosum* to *Phytophthora infestans*. *Euphytica* 8:117-124.
- Toxopeus, H.J. 1961. On the inheritance of tuber resistance of *Solanum tuberosum* to *Phytophthora infestans* in the field. *Euphytica* 10:307-314.
- Trapaga A., J.A. 1980. Selección de material germoplásmico de trigo (*Triticum aestivum* L.) mediante el uso de fitotoxina del agente causal *Fusarium calmorum* (W.G.Sm) Sacc. bajo condiciones de laboratorio e invernadero. Tesis Profesional, ITESM.
- Tripathi, R.K. 1974. Head Fungi of Sorghum Phytotoxins and their effects on seed germination. *Indian phytopathology* 27(4):499-501. *Resumen de Biol. Abst.* 62(2). 1976.
- Valadez, L.A. y De Alba, P.M.A. 1985. Informe de investigación. Programa de Hortalizas. Depto. de Fitotecnia. ITESM-Campus Querétaro. México.
- Valadez, L.A. 1992. Producción de Hortalizas. Segunda reimpresión. Editorial Limusa, S.A. de C.V. Grupo Noriega Editores. México.
- Van der Zaag, D.E. 1959. Some observations on breeding for resistance to *Phytophthora infestans*. *Europ. Potato J.* 2: 278-286.

- Vardi, A., P. R. Sprengel & E. Galun. 1975. Citrus cell; isolation of protoplasts, plating densities, effects of mutagen and regeneration of embryos. *Plant Science Letter* 4: 231-236.
- Vardi, A., & D. Raveh. 1976. Cross feeder experiments between tobacco and orange protoplasts. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 78:350-359.
- Vardi, A., E. Epstein and A. Breiman. 1986. Is the *Phytophthora citrophthora* culture filtrate a reliable tool for the in vitro selection of resistant *Citrus* variants?. *Theor Appl Genet* 72: 569-574.
- Vavilov, N.I. 1951. *Origin, Variation, Immunity and Breeding of Cultivated Plants*. Roland Press. New York, U.S.A. pp. 90-99.
- Villarreal, M. 1972. Informe de 1er. Curso Internacional sobre Producción de Papa. Wageningen, Holanda.
- Walker, J.C. 1957. *Patología Vegetal*. 2a. Edición. Ed. Omega, Barcelona, España. 238-254.
- Walker, J.C. 1965. *Patología Vegetal*. 3 ed. 818 pp. McGraw-Hill, New York.
- Wallin, J.R. 1962. Summary of recent progress in predicting late blight epidemics in the United State and Canada. *Amer. Potato Jour.* 39: 306-312.
- Wheeler, H., and H.H. Luke. 1963. Microbial toxins in plant diseases. *Anual Rev. Microbial* 37:223-242.
- Wheeler, H., and T.P. Pirone. 1975. *Plant pathogenesis toxins*. Ed. Springer Verlag. New York. Heidelberg.
- Wood, R.K.S., A. Ballio and A. Graniti (eds.) 1972. *Phytotoxins in Plant Diseases*. Academic Press. Londres.
- Yamaguchi, M. 1983. *World Vegetables. Principles, production and Nutritive Values*. AVI. Publishing Co., Connecticut, U.S.A.