

## SUPERVIVENCIA DEL *Phytophthora infestans* (MONT) DE BARY, CAUSANTE DEL TIZÓN TARDIO DE LA PAPA Y JITOMATE

Por Salvador Perches E.<sup>1</sup> y Jorge Galindo A.

Rama de Fitopatología, Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.

### Sinopsis

Mediante observaciones de campo se encontró que las lesiones primarias del tizón tardío de la papa ocurren en la base de los tallos o bien en hojas cercanas o en contacto con el suelo. Lesiones semejantes se presentaron en plantas de papa creciendo en suelo traído al invernadero de un terreno donde no se había sembrado papa por más de dos años; del mismo suelo se aisló, en un medio selectivo, a *Phytophthora infestans*. Con esta información se puede concluir que *P. infestans* sobrevive de una época de cultivo a la siguiente dentro del suelo. Dicha supervivencia puede ser de más de dos años. En tejidos de papa, jitomate y maravilla (*Mirabilis jalapa*), infectados por *P. infestans* se encontraron con frecuencia estructuras del tipo de oosporas pero desprovistas de anteridio. Si estas estructuras pertenecieron a *P. infestans*, su papel sería muy importante en la supervivencia del hongo. Resultados preliminares indican una posible influencia del genotipo de la planta en la formación de las estructuras del tipo oospora.

### Summary

Field observations have indicated that the primary lesions of late blight occur on the lower part of the stems or on the leaves close to or in contact with the soil. Similar lesions appeared on potato plants grown on soil that have been brought into the green-house from a field where no potatoes have been planted in the last three years.

*Phytophthora infestans* was isolated from the same soil by means of a selective media. From this information it may be concluded that *P. infestans* survives from one growing season to the next in the soil. This survival may be effective for more than two years. Oospore-like structures but without antheridium were found in tissues of potatoes, tomatoes and *Mirabilis jalapa* infected by *P. infestans*. If these oospore-like structures were related to *P. infestans*, they would play an important role in its survival due to the protective membrane and great numerical abundance. Preliminary data suggest a possible effect of the genotype of the host plant on the formation of oospore-like structures.

### Introducción

El hongo *Phytophthora infestans* causa la enfermedad más importante de la papa cultivada bajo condiciones de temporal. A mediados del siglo XIX dicho hongo fue el responsable de la destrucción total de los campos de papa de Irlanda, trayendo como consecuencia la muerte por inanición de más de un millón de irlandeses y la emigración de muchos otros<sup>7</sup>. Desde entonces, se han venido realizando diversos estudios sobre la biología de *P. infestans* con el fin de conocerlo mejor y así poder elaborar métodos eficientes para evitar o reducir los daños que causa en los cultivos de papa y jitomate.

Una de las primeras investigaciones fue la de encontrar la forma en la cual el hongo sobrevivía los crudos inviernos de Europa y pasaba de una temporada de

<sup>1</sup> Dirección actual: Departamento de Fitopatología, CIANE. Apartado Postal No. 247. Torreón, Coah., México.

cultivo a la siguiente, pensando que ello podría representar el punto débil de su ciclo biológico, hacia el cual pudiera dirigirse el ataque. De Bary<sup>1</sup> con base en su experiencia con otros hongos taxonómicamente relacionados a *P. infestans*, consideró que la supervivencia podría radicar en la formación de oosporas. Sin embargo, aún después de 15 años de búsqueda, tales estructuras nunca fueron encontradas. Un siglo más tarde la razón de esta falla se puso parcialmente de manifiesto por medio de los trabajos de Smoot, *et al*<sup>2</sup>, y Gallegly y Galindo<sup>4</sup>, quienes demostraron que el hongo requiere de 2 talos, A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub>, para que la formación de oosporas sea abundante y consistente, y que México es el único país en donde hasta la fecha se han encontrado ambos talos, de tal manera que la cuidadosa y larga búsqueda de De Bary fue infructuosa por haberse realizado solamente en el talo A<sub>1</sub>, que existe en Europa.

Teniendo conocimiento de la existencia en México de los talos A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> de *P. infestans*, y tomando en cuenta que Gallegly y Galindo<sup>4</sup> encontraron oosporas en hojas de papa en el Valle de Toluca, se consideró importante el determinar el papel que juegan dichas oosporas en la iniciación de las epifitias de tizón tardío de la papa. Además se trató de determinar si las variedades de papa influyen en la formación de oosporas. El interés de investigar esto último, se debió a que Galindo<sup>3</sup> observó que dos cepas de *Phytophthora capsici* formaron oosporas en un medio a base de jugo de verduras V-8, y no cuando las mismas cepas se aparearon en un medio a base de extracto de malta y levadura; por otro lado, Hendrix<sup>5</sup> encontró que el colesterol indujo la formación de oosporas en algunas especies de *Phytophthora*. Con estos antecedentes, se consideró que la constitución química de las diferentes variedades de papa podría influir en una mayor o menor formación de oosporas.

#### *Materiales y métodos*

Para determinar cuándo y en qué parte de las plantas de papa ocurren las primeras infecciones de *Phytophthora infestans*, se realizó una serie de observaciones en plántulas creciendo en los Campos Experimentales de "Santa Elena" y "El Horno", de los valles de Toluca y México respectivamente.

Para determinar la posible supervivencia de *P. infestans* en terrenos de cultivo, se tomaron muestras de suelo de un sitio del campo de "Santa Elena" en donde había ocurrido un fuerte ataque de tizón tardío hacía más de dos años y después no se había sembrado papa. Las muestras de suelo se colocaron en macetas donde se sembraron tubérculos de papa (4 a 5 por maceta) de la variedad Alpha; el suelo se conservó siempre húmedo por medio de riegos frecuentes, pensando que eso sería una de las condiciones apropiadas para que, de existir el hongo, pudiera reiniciar sus actividades y atacar a las plantas de papa.

El método para detectar la presencia de *P. infestans* en los terrenos de cultivo, fue por medio de aislamientos del suelo en un medio selectivo. Con parte de las muestras de suelo provenientes del terreno de "Santa Elena", se preparó una suspensión en agua a la que se le agregaron 100 ppm de sulfato de estreptomycinina e igual cantidad de penicilina. De esta suspensión de suelo se colocaron 10 gotas por

cada caja de petri que contenía medio de cultivo a base de jugo de verduras V-8 y 100 ppm de cada uno de los antibióticos antes mencionados. Con los hongos que se desarrollaron en las cajas, se hizo una suspensión en agua y con ella se realizaron 32 inoculaciones en hojas de papa de la variedad Bintje. Las inoculaciones se realizaron con pequeñas motas de algodón empapadas con la suspensión de los hongos y colocadas sobre las hojas de papa que previamente fueron puestas en una cámara húmeda.

Para determinar la posible influencia de las diferentes plantas hospedantes en la formación de oosporas de *P. infestans*, se realizaron colecciones de hojas de papa, maravilla (*Mirabilis jalapa*) y jitomate que tuvieran 1 ó 2 lesiones. Las hojas de papa se colectaron de plantas de la variedad Atzimba creciendo en los campos de "Santa Elena" y "El Horno", y además de plantas de las variedades Eréndira, Florita, Hilda, Bintje y Alpha inoculadas artificialmente con las cepas 436, 450 del grupo A<sub>1</sub> y Alpha-b y X-12 del grupo A<sub>2</sub>. Las inoculaciones se hicieron con motas de algodón y poniendo 2 cepas de diferente grupo a una distancia de 3 cm, con el fin de que aparearan dentro del tejido. Las hojas de maravilla se colectaron en Chapingo, Méx., donde crece en forma silvestre, y las hojas de jitomate se obtuvieron de 30 plantas diferentes, incluyendo variedades y especies silvestres, las cuales habían sido inoculadas para otros propósitos por Guillén<sup>2</sup>. Todas las hojas con 1 y 2 lesiones fueron colocadas en condiciones de humedad para permitir que continuara el desarrollo del hongo y sobre todo así lograr el apareamiento de los micelios en las hojas con 2 lesiones. Para poder realizar, las observaciones microscópicas, las hojas se aclararon sumergiéndolas en alcohol de 70° en ebullición por 10 minutos; después se colocó el tejido por observar en un portaobjetos y se depositaron gotas de lactofenol con anilina azul; finalmente se puso un cubreobjetos. En el caso de las hojas de maravilla fue necesario, antes de la decoloración del tejido, tratarlas con una solución de hidróxido de potasio al 10% para eliminar un gran número de cristales que dificultaban la observación. Para las observaciones microscópicas se utilizaron objetivos de 10X y 40X con oculares de 12X.

### Resultados

a) *Infecciones primarias causadas por P. infestans en plantas de papa bajo condiciones naturales.* En las visitas realizadas a los cultivos de papa del campo de "Santa Elena", se observó la aparición de las primeras lesiones en los últimos días del mes de junio. La mayoría de estas lesiones se encontraron en el tallo y en algunos casos en hojas que estaban en contacto con el suelo o muy próximas a éste. Al examinar cuidadosamente los tallos se observó que en todos los casos las lesiones se habían iniciado al nivel del suelo pero nunca a partir de la "semilla" (ver Figura 1).

*Presencia de P. infestans en el suelo.* En las plantas cultivadas bajo condiciones de invernadero, en suelo de los terrenos de "Santa Elena", la aparición de lesiones en los tallos fue muy semejante a la observada bajo condiciones de campo. Las primeras lesiones se presentaron a los 28 días de la siembra, todas ellas en tallos de plantas creciendo en una maceta; posteriormente, aparecieron más lesiones en



**Figura 1.** Infecciones primarias causadas por *Phytophthora infestans* en la base de tallos de papa, cultivada en el Valle de Toluca.

plantas de otras 2 macetas, en un caso a los 45 días y en el otro a los 60 días después de la siembra. En un segundo grupo de macetas se encontraron plantas con lesiones en 3 de ellas, a los 37, 41 y 43 días de la siembra, respectivamente (ver Figura 2).

Se confirmó por reaislamiento, que el agente causal de estas lesiones fue *P. infestans* y uno de los aislamientos fue identificado como raza 1,3,4.

De las 32 inoculaciones realizadas en hojas de papa de la variedad Bintje, con las colonias de *Phycomycetes* obtenidas de los aislamientos del suelo en medio con antibióticos, 23 causaron lesiones típicas de "tizón tardío". La presencia de *Phytophthora infestans* se pudo constatar en estas lesiones por medio de observaciones microscópicas.

b) *Formación de oosporas en hojas de diferentes plantas hospedantes.* En las hojas de papa que tenían 2 lesiones, producidas por medio de las inoculaciones artificiales con cepas sexualmente compatibles de *P. infestans*, se encontraron estructuras semejantes a oosporas desprovistas de anteridios; el diámetro promedio de dichas oosporas fue de 21 micras (ver Figura 3). En las hojas de la variedad Alpha sin lesiones, utilizadas como testigos, no se observaron tales estructuras.



**Figura 2.** Lesiones de tizón tardío originadas al crecer plantas de papa en un suelo del Valle de Toluca, llevado al invernadero.

En 7 de las 13 hojas de papa con 2 lesiones colectadas a los 80 días de la siembra en el campo de "El Horno", Chapingo, se encontraron estructuras semejantes a las descritas anteriormente y lo mismo se observó en 7 de las 11 muestras colectadas a los 45 días. En las hojas de papa con una lesión también se encontraron dichas estructuras.

En 4 de las 9 hojas de Maravilla con 2 lesiones, colectadas el 25 de septiembre, y en 6 de las 14 hojas colectadas el 14 de octubre, se encontraron estructuras semejantes a las observadas en las hojas de papa. Ninguna de las 10 hojas con una lesión, colectadas en la primera fecha, tuvo oosporas; en cambio 2 de las muestras con una lesión que se colectaron en la segunda fecha sí mostraron tales estructuras (ver Figura 4).

En 25 de las 30 selecciones del género *Lycopersicon* se encontraron las estructuras de tipo oosporas semejantes a las observadas en papa y maravilla.

#### Discusión

El hecho de que las primeras lesiones de tizón tardío ocurran en la base de los tallos de las plantas de papa y en hojas en contacto o cercanas al suelo, sugiere que el hongo *Phytophthora infestans* sobrevive en éste. Dicha supervivencia parece llevarse a cabo por medio de las oosporas de origen sexual o las de "origen partenogenético", como las encontradas en el presente estudio. Dicha consideración se basa en el hecho de que el hongo fue incapaz de sobrevivir por más de 44 días por medio de su micelio en un suelo que contenía microflora<sup>8</sup>. Por lo tanto la oospora

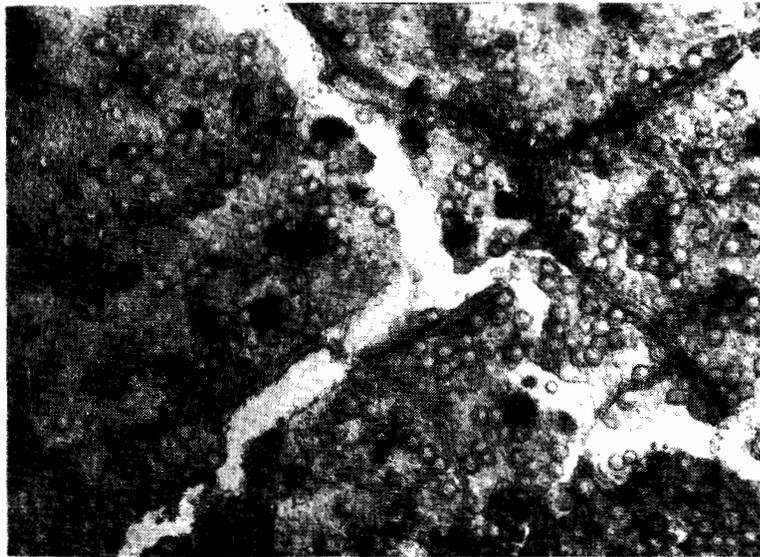


Figura 3. Oosporas partenogénicas o clamidosporas formadas en el tejido de papa infectado con *Phytophthora infestans* (aumento  $\times$  200 diámetros).

es la única estructura que posiblemente dio origen a las lesiones de tizón tardío bajo condiciones de invernadero o a las colonias aisladas en medio selectivo, ya que el suelo aparentemente no recibió una nueva dotación de inóculo del hongo en más de 2 años.

Las estructuras encontradas en los tejidos de papa, jitomate y maravilla difieren de las oosporas encontradas en papa por Gallegly y Galindo<sup>4</sup>, pues están des-

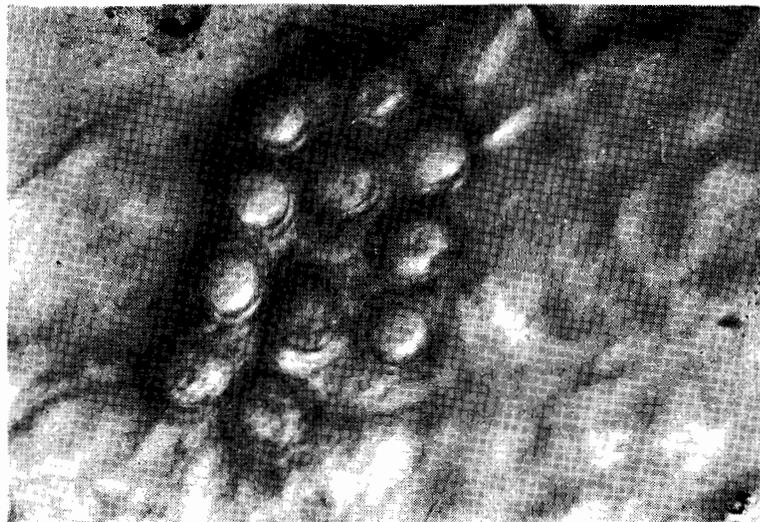


Figura 4. Oosporas partenogénicas o clamidosporas formadas en el tejido de *Mirabilis jalapa* infectado con *Phytophthora infestans* (aumento  $\times$  600 diámetros).

provistas de anteridio y son más pequeñas. Esto hace considerar la posibilidad de que dichas estructuras pertenezcan a otro hongo que entró como saprófito a los tejidos infectados. Sin embargo, el hecho de que dichas estructuras fueran encontradas con bastante frecuencia en los 3 hospedantes permite considerarlas con mayor seguridad como pertenecientes a *P. infestans*; además, ocasionalmente se han observado estructuras semejantes en colonias monocepaes creciendo en medios de cultivo. A estas estructuras se les ha llamado oosporas partenogénicas por estar desprovistas de anteridio, o clamidosporas por tener una pared gruesa y ser aparentemente de origen asexual. De tratarse de estructuras de *P. infestans*, su función sería lograr la supervivencia del hongo bajo condiciones adversas.

Aunque el número de muestras examinadas para determinar la influencia de la planta hospedante en la formación de "oosporas" fue sumamente limitado. Las variedades de papa más resistentes al ataque de tizón tardío aparentemente favorecen la formación abundante de "oosporas" partenogénicas.

#### Referencias citadas

1. DE BARY, ANTON. (1876). *Researches into the nature of the potato fungus*, *Phytophthora infestans*. Jour. Roy. — Agr. Soc. England ser. 2. 12: 239-269.
2. DE BRUYN, H. L. G. (1926). *The overwintering of Phytophthora infestans (Mont.) de Bary*. *Phytopathology* 16:121-140.
3. GALINDO A. JORGE. *Datos no publicados*. Colegio de Postgraduados, E.N.A. Chapingo, México.
4. GALLEGY M. E. and J. GALINDO. (1958). *Mating types of Phytophthora infestans in nature in Mexico*. *Phytopathology* 48:274-277.
5. GUILLEN P. RODOLFO. (1967). *Reacción de 30 selecciones del género Lycopersicon al ataque de Phytophthora infestans (Mont) de Bary*. Tesis Maestro en Ciencias, Colegio de Postgraduados, E.N.A. Chapingo, México.
6. HENDRIX, J. W. (1965). *Influence of sterols on growth and reproduction of Phythium and Phytophthora spp.* *Phytopathology* 55:790-797.
7. LARGE, E. C., (1958). *The advance of fungi*. Jonathan Cape, Thirth bedfore square, London. 448 p.
8. MURPHY, P. A. and R. MC. RAY. (1924). *The development of blight in potatoes subsequent to digging*. Jour. Dept. of Lands and Agr. Ireland. 24:1-14.
9. SMOOT, J. J., GOUGH, F. J., LAMEV, H. A., EICHENMULLER, J. J., & GALLEGLY, M. E. (1958). *Production and germination of oospores of Phytophthora infestans*. *Phytopathology*, 48, 165-71.