

APLICACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y MOLECULARES EN EL ESTUDIO DE POBLACIONES DE *PHYTOPHTHORA INFESTANS* (MONT.) DE BARY CAUSANTE DEL TIZÓN TARDÍO EN PAPA Y TOMATE

Keren Hernández Guijarro¹ y Guadalupe Gómez Izaguirre²

¹ Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliana Dimitrova. Carretera a Bejucal Km 33½, Quivicán, La Habana

² Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600, c.e.: ggomez@inisav.cu

RESUMEN

La importancia del género *Phytophthora* es trascendental para la humanidad como para el desarrollo de la ciencia de la patología de plantas. Desde el primer reporte de la epidemia de tizón tardío causada por *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary que data de 1845 –cuando devastó plantaciones de esta solanácea en el oeste de Europa, con el mayor impacto en Irlanda– hasta la fecha, la enfermedad ha causado severos daños en todo el mundo. Esta reseña muestra aspectos taxonómicos, biológicos y resultados de estudios de las poblaciones en diferentes países y continentes con la ayuda de herramientas tan actuales como la biología molecular. Importantes son los logros en dilucidar el origen de las poblaciones de este patógeno, así como teorizar acerca de las diferentes migraciones en todo el planeta y el conocimiento de las estructuras de las poblaciones en las diferentes regiones geográficas. Se trata en el documento la historia de la enfermedad en Cuba, la detección de *P. nicotianae* en las áreas paperas desde 1993 y se concluye con la necesidad de realizar estudios genéticos para el conocimiento de las fuentes de origen de este hongo en Cuba.

Palabras clave: *Phytophthora infestans*, papa, biología molecular, poblaciones, migraciones

ABSTRACT

The importance of *Phytophthora* genera is transcendental for humanity as for the development of Plant Pathology Science. Since the first report of potato late blight epidemic caused by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary which dates from 1845 –when it devastated plantations of this Solanacea in the west of Europe, with a greater impact in Ireland– to the present, the disease has caused severe damages anywhere in the world. This review shows taxonomic and biological aspects, and results of populations studies in different countries and continents, realized with the aid of updated tools as Molecular Biology. Important profits have been obtained in explaining the origin of these pathogen populations, as well as theorizing about different migrations in the whole planet, and in the knowledge of the populations structures in diverse geographic regions. The history of the disease in Cuba and *P. nicotianae* detection in potato areas since 1993 is treated in the document. It concludes with the requirement to make genetic studies in order to obtain the knowledge of this fungus origin sources in Cuba.

Key words: *Phytophthora infestans*, potato, molecular biology, populations, migrations

INTRODUCCIÓN

La importancia del género *Phytophthora* ha sido trascendental, tanto para la humanidad como para el desarrollo de la ciencia de la patología de plantas, si se tiene en cuenta el lugar que ha ocupado la papa en la dieta y la presencia de este agente infeccioso asociado al cultivo. El primer reporte de la epidemia de tizón tardío causada por *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary data de 1845, cuando devastó plantaciones de esta solanácea en el oeste de Europa, con el mayor impacto en Irlanda [Gregory, 1983]. En 1845, y nuevamente en 1848, una tercera parte del cultivo fue destruido por el tizón, y más desastroso aún fue cuando en 1846 se perdieron las tres cuartas partes de la producción del tu-

bérculo en esta región. Como resultado, un millón de personas murieron a consecuencia de enfermedades relacionadas con la hambruna [Clarkson, 1989] y más de 1,5 millones emigraron [Alexopoulos *et al.*, 1996].

Con posterioridad a migraciones del patógeno a partir de su lugar de origen se han realizado diversas investigaciones, apoyadas en el empleo de marcadores moleculares para dilucidar algunas incógnitas relativas al origen, migraciones, así como variaciones en la biodiversidad de las poblaciones, las que han contribuido a cambiar la forma de enfocar el manejo de la enfermedad. Por ejemplo, en América del Norte y Europa se ha generado una información detallada de las

poblaciones del patógeno que ha permitido hacer más eficiente los programas de manejo integrado del tizón tardío; sin embargo, muy poco se sabe sobre este tema en América del Sur, África y regiones de Asia [Goodwin, 1997].

En Cuba, a partir de la campaña del cultivo 1993-1994, cuando se presentó una severa epidemia que afectó fundamentalmente a las provincias de La Habana y Matanzas, el comportamiento epidemiológico de la enfermedad se ha modificado, y se ha detectado gran variabilidad en la resistencia al fungicida metalaxyl y al aumento paulatino del grupo de compatibilidad A₂ [Muñoz, 1997; Tomas, 1999]. Además, posteriormente se han presentado epidemias moderadas y severas, y una mayor agresividad del patógeno ha sido evidente [CNSV, 1995; 1996; 1999]. Hasta ahora poco se sabe de la variabilidad de las poblaciones desde el punto de vista fenotípico y se desconoce su composición genotípica, lo que imposibilita realizar un análisis completo acerca de las reales fuentes de inóculo en el país, así como el grado de variabilidad de las poblaciones, relaciones intraespecies y posibilidad de recombinación sexual.

Para contribuir mundialmente al conocimiento de las características de las poblaciones actuales de *P. infestans* que brinde información actualizada para responder a las interrogantes anteriores, se realizó la siguiente reseña referente al empleo de marcadores bioquímicos y moleculares aplicados al estudio del origen y migraciones de *P. infestans* a través del mundo, así como a la caracterización genotípica de este patógeno en los países donde se ha realizado.

P. infestans

El hongo *P. infestans* pertenece al reino Stramenopila, phylum Oomycota, clase Oomycetes, orden Peronosporales y familia Pythiaceae [Alexopoulos *et al.*, 1996]. Esta especie se caracteriza por presentar micelio cenocítico y esporas móviles flageladas [Dowley, 1997]. Sus esporangios se desarrollan en condiciones de humedad, fundamentalmente durante la noche, y se dispersan bajo condiciones de baja humedad relativa durante el día a través del viento. Estas estructuras contribuyen grandemente a la aparición de epidemias bajo condiciones ambientales óptimas, pues cuando germinan directamente a través de un tubo germinativo e indirectamente liberando las zoosporas –uninucleadas y biflageladas–, actúan como fuente de inóculo para la infección. Esta segunda vía es la más rápida y eficiente. El hongo es heterotálico y se reproduce sexualmente

en presencia del grupo de compatibilidad opuesto, y la fertilización ocurre del oogonio por un anteridio, lo que da lugar a una oospora [Dowley, 1997]. Se ha comprobado que la formación de estas estructuras también ocurre ameioticamente por apomixis o por autofecundación [Smart *et al.*, 1998]. El complicado ciclo de vida, con estructuras marcadamente diferentes –esporas que varían desde zoosporas móviles hasta oosporas de pared gruesa– hace que el manejo de la enfermedad sea difícil, lo que constituye un reto para los productores del tubérculo [Zentmyer, 1983; Fry y Smart, 1999].

Los cambios presentados en la estructura de las poblaciones de *P. infestans* han generado una dificultad cada vez mayor para combatir la enfermedad en América del Norte y Europa [Fry *et al.*, 1993]. La diversidad en las poblaciones varía el comportamiento epidemiológico de la enfermedad de dos formas. Primeramente, si ocurre la reproducción sexual, las oosporas formadas pueden sobrevivir en el suelo en la ausencia de un hospedero, servir como fuente de inóculo primario e infectar además los tubérculos producidos. En segundo lugar, los nuevos genotipos migrantes o progenies recombinantes pueden ser más patogénicos y adaptarse mejor que los antiguos linajes, lo que provoca un aumento de la tasa de crecimiento epidémico, de ahí la importancia del estudio de la variabilidad genética de las poblaciones del hongo, pues con esos resultados pueden hacerse recomendaciones para modificar y mejorar los sistemas de manejo de la enfermedad [Legard *et al.*, 1995; Oyarzun *et al.*, 1997], incluyendo la búsqueda de hospederos resistentes [Leung *et al.*, 1993].

MARCADORES MOLECULARES

El desarrollo de los marcadores moleculares ha abierto un nuevo camino hacia el entendimiento de la estructura genética de las poblaciones de patógenos de plantas. Muchos marcadores han sido de gran utilidad para el análisis de poblaciones de *P. infestans*, incluidos los fragmentos de restricción de longitudes polimórficas (RFLP-Restriction Fragment Length Polymorphism-), patrones aloenzimáticos de glucosa 6 fosfato isomerasa (Gpi) y peptidasa (Pep), y halotipos de ADN mitocondrial (ADNmt) entre los más empleados [Spielman, 1991; Spielman *et al.*, 1991; Goodwin *et al.*, 1992; Fry *et al.*, 1993; Sujkowski *et al.*, 1994; Goodwin *et al.*, 1995; Goodwin *et al.*, 1996].

El análisis por RFLP con la sonda RG57 permite simultáneamente la obtención de datos de un gran nú-

mero de *loci*, muchos de los cuales no se encuentran unidos desde el punto de vista genético, lo que posibilita identificar las variantes genotípicas del patógeno y denominarlas según la nomenclatura propuesta por Forbes *et al.* (1998). Los genotipos obtenidos por isoenzimas se describen en términos de movilidad relativa de sus bandas de actividad en un campo eléctrico, donde el alelo más común es el que presenta movilidad 100. Estos estudios no brindan tanta información como el anterior; sin embargo, se realizan con determinada facilidad, son estables y ofrecen resultados valiosos en variantes genotípicas polimórficas para ambas aloenzimas. El ADNmt se define en dos grupos (I y II) y resulta interesante, porque muestra poca o ninguna recombinación, es heredado fundamentalmente a partir de uno de los parentales e independiente del genoma nuclear, características que lo hacen idóneo para definir líneas de descendientes y vías de flujo de genes en eventos migratorios.

Los estudios del patógeno a través de estos marcadores también ha estimulado nuevas hipótesis acerca de las migraciones históricas y la estructura genética de las poblaciones a nivel mundial [Goodwin, 1997]. Esta información es de gran utilidad en las interpretaciones de los cambios de severidad del patógeno en todo el mundo [Fry y Goodwin, 1997].

RESULTADOS DEL EMPLEO DE MARCADORES PARA DILUCIDAR EL ORIGEN Y LAS MIGRACIONES DEL PATÓGENO

Origen

El empleo de isoenzimas y marcadores moleculares ha permitido un análisis profundo de la estructura fenotípica y genotípica de las poblaciones de *P. infestans* en diversas áreas geográficas. Entre los resultados más relevantes de estas investigaciones se encuentra el descubrimiento de poblaciones pertenecientes a un único linaje clonal llamado US-1 [Goodwin *et al.*, 1994] o PO-1 [Sujkowski *et al.*, 1994], presentes en todas las regiones del mundo, excepto en la parte central de México, antes de la gran migración global de mediados de la década del setenta del pasado siglo [Goodwin *et al.*, 1994].

Mundialmente, por lo común se acepta la teoría que ubica el centro de origen de *P. infestans* en México central. La hipótesis fue primeramente propuesta por Reddick (1939, 1943) y más tarde fue aceptado que este patógeno es oriundo del altiplano central mexicano, y en consecuencia la introducción original en Europa y

América del Norte ocurrió desde esta región. Lo anterior se sustenta sobre la base de dos hallazgos: 1) en esa área están presentes los dos grupos de compatibilidad sexual [Callegly y Galindo, 1958] y 2) la diversidad patogénica es mayor en esta zona si se compara con el resto del mundo [Mills y Niederhauser, 1953], lo que se ha confirmado mediante el empleo de marcadores neutrales como izoenzimas y ADN-RFLP [Goodwin *et al.*, 1992].

Por otra parte, Abad y Abad (1995) propusieron la hipótesis de que este microorganismo ha sido endémico en Perú y otros países andinos durante siglos; sin embargo, no existen evidencias hasta el momento que sustenten que el tizón tardío es mucho más viejo en la región andina que en México central [Andrison, 1996]. Los genes de resistencia específicos de raza se encuentran más frecuentemente en México central que en los Andes sudamericanos [Hawkes, 1958], lo que podría ser un indicador de que esta última zona geográfica es solo un hogar secundario del hongo. La baja diversidad encontrada en la región andina, determinada por izoenzimas y marcadores moleculares, la combinación de genes de virulencia, así como los tipos de apareamiento [Tooley *et al.*, 1989], también apoyan esta interpretación.

Migraciones globales de *P. infestans*

a) Primera migración (1840)

La primera migración global de *P. infestans* probablemente ocurrió en tres pasos. Primero de México central a Estados Unidos, luego de aquí a Europa y por último desde Europa hacia el resto del mundo [Goodwin *et al.*, 1994]. Estas etapas fueron inferidas por la ocurrencia de la enfermedad en el cultivo de la papa, primero en el este de Estados Unidos en 1843 [Stevens, 1933], luego en Europa en 1845 [Bourque, 1993] y subsecuentemente en la mayoría de todas las áreas del planeta donde se planta esta solanácea [Cox y Large, 1960]. Debido a los efectos devastadores del tizón tardío, parece poco probable que se haya presentado la enfermedad antes de 1840 sin ser registrada.

Los datos históricos y genéticos indican que en el primer paso de la migración inicial de México a Estados Unidos estuvieron involucrados genotipos que parecen estar relacionados con el linaje clonal US-1 (A₁, Gpi 86/100, Pep 92/100). Las poblaciones involucradas en esa migración inicial experimentaron, aparentemente, un «cuello de botella» genético severo, que redujo de manera significativa su nivel de variación genética

[Goodwin, 1997]. El resultado de los análisis señaló la presencia de los alelos aloenzimáticos Gpi 86 y Pep 92 en altas frecuencias [Tooley *et al.*, 1989; Spielman *et al.*, 1991; Goodwin *et al.*, 1994]. Estos alelos están en porcentajes elevados en las poblaciones de *P. infestans* de México central, pero no en otras regiones de este país [Goodwin *et al.*, 1992], de lo que se infiere que la fuente de la población involucrada en la primera migración está probablemente ubicada en la cercanía del valle de Toluca, en México central.

El segundo paso posiblemente ocurrió durante 1844 o 1845 con la introducción de un solo clon (US-1) desde Estados Unidos a Europa [Goodwin *et al.*, 1994]. En 1997 Goodwin sugirió que la variación genética en esa ocasión fue extremadamente pequeña, debido a que la fuente de población provenía de Estados Unidos. Después que *P. infestans* colonizó a Europa, se diseminó por todo el mundo en tubérculos de papa para semilla y consumo. El genotipo transportado durante esta segunda y tercera etapa fue US-1, aislamiento que ha sido encontrado en 18 países a través de todos los continentes, excepto Australia y Antártida, y fue el único que estuvo presente en viejas colecciones que datan de finales de 1950 [Goodwin, 1997].

Con respecto a esta primera migración existen otras hipótesis, como la que concibe la migración también en tres etapas, primero de México a América del Sur y subsecuentemente a América del Norte y Europa [Andrison, 1996]. Por otra parte, Abad y Abad (1997) presentaron una tercera explicación, la que sustenta que la introducción del hongo en América del Norte y Europa provenía de la región andina, basados en su hipótesis sobre el origen de *P. infestans*.

b) Segunda migración (1976-1977)

Debido a que las oportunidades para la ocurrencia de otra migración estuvieron limitadas durante mucho más de un siglo, probablemente no existió más flujo de genes de *P. infestans* fuera de México hasta la segunda mitad de la década del setenta. El evento debió ocurrir durante 1976 y 1977, cuando 25 000 t de papa fueron embarcadas de México a Europa. Este segundo desplazamiento fue anunciado de forma oficial en 1984, cuando se descubrió por primera vez el grupo de compatibilidad A_2 en aislamientos de colecciones fechadas en 1981 [Hohl y Iselin, 1984]. El análisis aloenzimático reveló que otros cambios habían ocurrido concomitantemente con la presencia del tipo de apareamiento A_2 . Los aislados de este tipo y nuevos genotipos aloenzimáticos fue-

ron colectados en Holanda y el este de Alemania a principios de la década del ochenta [Drenth *et al.*, 1994]. Estos genotipos se diseminaron a través de Europa, Medio Oriente, África y América del Sur a inicios de la década del noventa [Fry *et al.*, 1993; Goodwin *et al.*, 1994].

El «cuello de botella» genético para esta segunda migración aparentemente no fue tan severo como el ocurrido en la década del cuarenta del siglo XIX, porque además del tipo de apareamiento A_2 se introdujeron nuevos genotipos A_1 , y se detectaron alelos aloenzimáticos Gpi 90 y Pep 83 [Spielman *et al.*, 1991] muchas más bandas ADN fingerprint (huellas del ADN) [Goodwin *et al.*, 1994] y halotipos adicionales de ADNmt (Drenth *et al.*, 1993). La diversidad en la virulencia también se incrementó, y las variedades que antes eran resistentes a la enfermedad se convirtieron en susceptibles. Estos genotipos se adaptaron mucho mejor y rápidamente desplazaron al viejo linaje clonal US-1 [Fry *et al.*, 1993].

Un resultado secundario de este segundo flujo genético fue la ocurrencia de reproducción sexual de *P. infestans* en Europa. Grandes evidencias de tal suceso se encontraron en Polonia y Holanda [Zwankhuizen *et al.*, 2000]. Toda la recombinación sexual detectada ha ocurrido exclusivamente entre genotipos nuevos y no entre genotipos viejos y nuevos, debido a diferencias de ploidía: las viejas poblaciones fueron triploides o tetraploides, mientras que las nuevas son predominantemente diploides. Una gran carga mutacional en la población asexual conduce a una recombinación más restringida, lo que inclina a pensar que el flujo de genes en este caso ocurrió debido al desplazamiento de las viejas poblaciones por las nuevas migrantes, con ausencia o poca introgresión [Drenth *et al.*, 1993; Sujkowski *et al.*, 1994].

c) Tercera migración (1979)

Después de treinta y dos años sin manifestación epidémica del tizón tardío, la enfermedad comenzó a incidir de forma severa en el sur de California en cultivos de papa y tomate a partir de 1979 [Goodwin, 1997]. Este suceso fue asociado a una tercera migración del hongo desde el noroeste de México hacia Estados Unidos, aunque no existen evidencias certeras al respecto. Un aislado procedente de California (1982) fue clasificado como US-6 (A_1 , Gpi 100/100, Pep 92/100), que no había sido detectado antes en Estados Unidos; sin embargo, fue el genotipo más común en el noroeste de México en 1989 [Goodwin *et al.*, 1992].

Todos los aislamientos US-6 analizados infectaron tanto a papa como a tomate, mientras que la mayoría de los aislados US-1 solo infectaron papa. Este linaje es muy patogénico en ambos cultivos, lo que aporta fuertes evidencias circunstanciales de que estas epidemias fueron causadas por la llegada de nuevos genotipos, probablemente desde el noroeste de México [Goodwin *et al.*, 1995].

d) Cuarta migración (1992)

En contraste con lo ocurrido en la tercera migración, las pruebas que sustentan el cuarto desplazamiento, desde el noroeste de México hacia Estados Unidos y Canadá, están claras. Dos nuevos genotipos: US-7 (A_2 , Gpi 100/111 Pep 100/100) y US-8 (A_2 Gpi 100/111/122, Pep 100/100) fueron detectados en Estados Unidos a principios de 1992, mostraron alta resistencia al metalaxyl y se diseminaron por ambos países en 1994. Su movimiento dentro de Estados Unidos se inició probablemente a través de frutos de tomate infectados [Goodwin *et al.*, 1995].

ESTRUCTURA DE LAS POBLACIONES DE *PHYTOPHTHORA INFESTANS* EN DIFERENTES REGIONES GEOGRÁFICAS

Europa

La segunda migración implicó cambios significativos en las poblaciones de *P. infestans* en Europa. A partir de la introducción del grupo de compatibilidad A_2 , la diversidad genotípica de *P. infestans* aumentó y ocurrió la reproducción sexual como resultado de la introducción en esta región de nuevos genotipos [Drenth *et al.*, 1994].

En Holanda la caracterización de aislados de *P. infestans* colectados de campos de papa y tomate de 1993 a 1996 reveló 154 variantes diferentes en los patrones del ADN fingerprinting (sonda RG57). Cuatro genotipos A_1 (NL-41, NL-69, NL-75 y NL-76), que no siguen la nomenclatura propuesta por Forbes *et al.* (1998), se encontraron en casi todas las regiones analizadas y durante al menos dos años. El porcentaje de aislados con tipo de apareamiento A_2 difirió dramáticamente durante estos años y en los lugares muestreados. El total de A_2 fue catorce veces mayor en 1996 (56%) respecto a 1994 (4%). La mayoría de los aislados, tanto de papa como de tomate, eran «raros» (no habían sido hallados con anterioridad), los que durante 1996 estaban presentes con mayor frecuencia en campos orgánicos, mientras

que en 1995 se encontraban en pequeños huertos o parcelas [Zwankhuizen *et al.*, 2000].

La proporción de aislados A_1 y A_2 , unido a los altos porcentajes de genotipos «raros» encontrados cada año, sugieren que en Holanda haya ocurrido probablemente la reproducción sexual. Si no hubiese sido así cabría esperar la disminución de las variaciones a nivel genómico, evento que no ocurrió. Al comparar este estudio con otros realizados en Polonia y Estados Unidos, se concluyó que la diversidad genotípica en América del Norte durante 1992 y 1993 fue relativamente baja en comparación con la diversidad relativamente alta presente en Polonia entre 1985 y 1991, y en Holanda en 1989 y 1993-1996 [Zwankhuizen *et al.*, 2000].

Por otra parte, en la Comunidad Económica Europea se han acumulado evidencias que confirman la presencia de nuevas poblaciones de *P. infestans*. Evaluaciones de patotipos del patógeno relativamente amplias se llevaron a cabo en Polonia y Rusia, las que indicaron un predominio de genotipos con factores genéticos de virulencia complejos y altamente polimórficos. Otros estudios realizados con marcadores aloenzimáticos demuestran la presencia de alelos característicos de nuevas poblaciones [Sujkowski *et al.*, 1994].

En Rusia, al determinar la variabilidad en el ADNmt, se confirmó la presencia de nuevos tipos y el predominio del grupo IIa en papa y del tipo Ia en tomate, con variantes nuevas y viejas en los frutos, mientras que la mayoría de los aislamientos de hojas fueron ADNmt Ib. La presencia de este último grupo, ligado al hallazgo de genotipos homocigóticos Gpi (100/100), constituye una fuerte evidencia de que la circulación de aislados provenientes de tomate en ese país es posible, porque las oosporas sirven como fuente de inóculo en el campo [Maleeva *et al.*, 1996].

Los aislados con tipo de apareamiento A_2 se han detectado en Polonia desde 1988 [Sujkowski *et al.*, 1994], pero la frecuencia de aparición varía ampliamente de un año al siguiente. En ese país se ha detectado la sobrevivencia de oosporas en condiciones de campo durante el invierno [Zimnoch-Guzowska, 1999]. La presencia del tipo de apareamiento A_2 fue detectada también en Hungría y la Federación Rusa, aunque no ha sido encontrado en la República Checa durante tres años de evaluación.

Bakonyi *et al.* (2002) caracterizaron los aislados de *P. infestans*, colectados de papa y tomate en diferentes regiones de Hungría en la década pasada, particular-

mente durante 1998, donde obtuvieron que la proporción de tipos de apareamiento A_1 y A_2 fue 8:9 y 4:15 para aislamientos de papa y tomate, respectivamente, y la resistencia al metalaxyl fue más frecuente en aislados de papa y del grupo de compatibilidad sexual A_1 . El alelo Gpi (100/100) se halló en todos los aislados; pero a diferencia de otros países europeos, los alelos Pep más comunes fueron 96/96 (50%), 96/100 (27,7%) y 100/100 (16,6%). Al realizar los estudios de ADN fingerprinting RG57, se detectó que de los 36 aislados colectados, 18 fueron genotipos únicos encontrados en Europa, lo que sugiere que las migraciones y la recombinación sexual y/o asexual pueden tener un papel relevante en la evolución del patógeno en esa zona.

En España y Francia todos los aislados colectados de papa en 1995 fueron del tipo de apareamiento A_1 . Hasta ese momento el grupo de compatibilidad A_2 no había sido reportado en la parte sur de Europa. Fue entonces cuando se detectó el tipo A_2 en Bélgica y Francia, en este último país proveniente de tomate. Los aislamientos franceses fueron sensibles al metalaxyl, no así los de Bélgica, que fueron resistentes. Los aislados hallados en papa fueron patogénicos en tomate, pero sus patrones de virulencia fueron muy simples. Estos aislados se caracterizaron por sus patrones aloenzimáticos, y se detectó que en Francia existían los alelos Gpi 90/100 Pep 100/100 y Gpi 100/100 Pep 100/100. Solo la primera combinación estaba presente en Bélgica. Los análisis del ADNmt permitieron confirmar la baja diversidad genética en esta región durante 1995 [Lebreton *et al.*, 1996].

Heremans y Jamart (2000) reportaron la introducción en Bélgica de una nueva población de *P. infestans* que desplazó a la original. Se encontró una proporción casi igual de tipo de apareamiento A_1/A_2 , semejante a los resultados en Holanda, y contrariamente a los pocos aislamientos A_2 caracterizados en Francia. La población belga difiere de la holandesa y la francesa en los perfiles aloenzimáticos: solo el genotipo 100/100 se encontró tanto para Gpi como para Pep. Los patrones de ADN fingerprinting revelaron alta diversidad genética con un promedio de variación de 25%, similar al observado en Holanda y casi el doble del hallado en Francia.

Por otra parte, Cooke *et al.* (2002) hallaron que en Inglaterra los grupos de compatibilidad A_1 y A_2 estaban presentes tanto en campos comerciales como en pequeños jardines; sin embargo, en estos últimos coexistían ambos con mayor frecuencia. La respuesta al metalaxyl

en cada grupo difirió significativamente, con resistencia de 52% de los A_1 y solo de 5% de los aislados A_2 . Se manifestó además un incremento en la respuesta intermedia a este fungicida en los últimos tres años. Mediante los análisis por AFLP se observó una considerable diversidad genotípica, con la existencia de evidencias de recombinación sexual ocasional y flujo de genes entre los genotipos.

Los resultados de estudios de las poblaciones en Alemania mostraron la presencia del genotipo US-1 y de gran parte de aislamientos de campo y jardines, con tipo de apareamiento A_1 y halotipo ADNmt IIa. Los resultados de los análisis AFLP permitieron agrupar los datos en dos clusters: uno que contenía los aislados de tomate y el otro a los provenientes de papa, lo que indicó la existencia de genotipos con una alta especialización por el hospedero [Moeller *et al.*, 2002].

Asia

Los análisis RFLP con la sonda RG57 en China revelaron la presencia del genotipo US-1 [Forbes *et al.*, 1998]. Otros estudios realizados a partir de 210 aislados, obtenidos durante el período 1995-2001, mostraron que 26,2% fueron del tipo de apareamiento A_2 , y existía una frecuencia mayor en la parte norte del país. La resistencia al metalaxyl se encontró en 43,6% de las principales áreas productoras de papa, y la mayoría de los aislados mostró una resistencia intermedia [Zhang *et al.*, 2002].

En la India las poblaciones de *P. infestans* experimentaron un gradual cambio en su estructura en consideración a razas fisiológicas, estados de ploidía, grupo de compatibilidad y resistencia a fungicidas. Desde la introducción del tipo de apareamiento A_2 detectado en 1986-1987, las viejas poblaciones son gradualmente desplazadas por nuevos genotipos, especialmente en zonas montañosas. Las nuevas cepas son más agresivas y mejores competidoras. La población del hongo es poliploide a través de todo el país, integrada por diploides, triploides y tetraploides, y la resistencia al metalaxyl aumenta rápidamente en áreas donde el fungicida se utiliza con regularidad [Singh *et al.*, 1999].

La población en Asia occidental está compuesta por dos clones diferentes: US-1 y JP-1. Ambos tipos están presentes en Japón, al menos desde 1987, y son sexualmente compatibles en el laboratorio, aunque no existen evidencias de que la reproducción haya ocurrido en los campos. El genotipo asexual JP-1 –grupo de compatibilidad A_2 – está presente en Japón y Corea del

Sur. En este último país el nuevo genotipo con resistencia al metalaxyl parece haber desplazado al genotipo A₁ residente [Wei *et al.*, 1999].

África

La caracterización del hongo en el este de África se inició en Uganda y Kenya con estudios preliminares que indican un alto nivel de resistencia al metalaxyl, y sugieren la presencia del tipo de apareamiento A₂ [Sengooba y Hakiza, 1999]. Los análisis basados en RFLP y halotipos de ADNmt revelaron la presencia del linaje clonal US-1 con diferencias en los patrones aloenzimáticos para aislamientos provenientes de papa y tomate [Vega-Sánchez *et al.*, 2000].

Por otra parte, motivados por severas epidemias de tizón tardío en Sudáfrica, se investigó acerca de las características fenotípicas y genotípicas de las poblaciones presentes durante 1995 y 1996, y resultó que todos los aislados analizados mostraron características típicas de la población existente antes de 1980: tipo de apareamiento A₁, genotipo Gpi 86/100, patrón fingerprinting US-1 y halotipo ADNmt 1b, encontrada previamente en el mundo. La frecuencia de aislados altamente resistentes al metalaxyl se incrementó de 35% en 1996 a 51% en 1997, y estaban presentes en varias regiones tradicionales productoras de papa [McLeod *et al.*, 2001].

América del Norte

Los daños causados por *P. infestans* no fueron un gran problema en las décadas del setenta y ochenta en Estados Unidos y Canadá. Los cambios mayores en la composición genética del hongo ocurrieron durante 1991-1992. La explicación más probable para estos cambios fue la masiva inmigración de nuevos genotipos antes o durante 1992, lo que concuerda con la cuarta migración del patógeno. Uno de ellos, el US-7, se detectó en diez estados que abarcaron el área comprendida desde New York y Florida hasta California durante los años posteriores al primer hallazgo. Además, el clima favorable propició que linajes establecidos (US-1) causaran más daños, lo que provocó la existencia de severas epidemias de tizón tardío en North Dakota en 1992 y 1993. En New York se hallaron los genotipos US-1, US-7 y US-8 en 1992, pero un año más tarde solo se encontró US-7 [Goodwin *et al.*, 1995].

Antes de 1990 raramente aparecían cepas del hongo resistentes al fungicida sistémico metalaxyl, mientras que, especialmente entre 1992 y 1994, aumentaron los aislamientos resistentes, y ya en 1998 se detectaron en

la mayoría de las áreas productoras de papa en Estados Unidos y Canadá [Deahl y Jones, 1999]. Por otra parte, los primeros aislados A₂ fueron detectados en ambos países durante 1987 y 1989 [Deahl *et al.*, 1991]. En Canadá la proporción del tipo de apareamiento A₁ disminuyó entre 1994 y 1996, mientras el porcentaje de presencia del tipo A₂ se incrementó significativamente. Solo British Columbia mostró alta incidencia del tipo A₁ (88%) [Deahl y Jones, 1999].

Goodwin *et al.* (1998) reportaron la presencia de 13 genotipos diferentes en una muestra total de 556 aislamientos procedentes de Estados Unidos y Canadá, analizados durante 1993-1996 mediante el empleo del sistema rápido de electroforesis en acetato de celulosa. Estos datos no solo demostraron los cambios dentro de las poblaciones de *P. infestans* en ese período, sino también cómo el genotipo US-8 aumentó rápidamente, y en 1996 era el predominante [Deahl y Jones, 1999]. Posteriormente estudios realizados durante 1996-1999 continuaban con la muestra de la prevalencia de este genotipo en Canadá, fundamentalmente en 1998, el cual se diseminó en corto tiempo por Estados Unidos, y fue la principal causa de epidemias en los cultivos de papa y tomate durante 1998 y 1999.

Según Daayf *et al.* (2001), además de la posibilidad de migraciones de nuevos genotipos desde México, una de las causas probables de variabilidad genotípica, tanto en Estados Unidos como en Canadá, es la ocurrencia de recombinación sexual. Esta hipótesis está sustentada en la detección, en años recientes, de los grupos de compatibilidad sexual A₁ y A₂, y la presencia de algunos aislados que comparten características diferentes de ambos grupos.

En Canadá, aunque la mayoría de los campos muestreados contienen un solo tipo de apareamiento –lo que limita la reproducción sexual–, los análisis de una muestra pequeña de aislados procedentes de British Columbia identificaron cuatro genotipos que pudieron haberse originado por recombinación sexual entre dos de los tipos A₁ y A₂ más comunes: US-6 y BC-1 respectivamente. Existen, al menos, otros dos orígenes potenciales que comprenden las mutaciones y la recombinación parasexual, sin embargo, ninguna de los dos parece probable. Los análisis de los patrones de RG57 fingerprinting y aloenzimas mostraron muchos cambios en los genotipos recombinantes respecto a sus posibles parentales, lo que induce a pensar que su origen no es por mutaciones, pues en este caso cabría es-

perar la afectación de un solo locus. La recombinación parasexual no ocurre comúnmente en diploides y no existen fuertes evidencias de algún ciclo parasexual en *P. infestans*, lo que es índice de que los genotipos recombinantes se hayan originado por recombinación sexual dentro de British Columbia [Goodwin *et al.*, 1995].

Existe también el criterio que en Washington central haya ocurrido la reproducción sexual [Miller y Johnson, 1988]. En este lugar, durante 1993, se encontraron tanto aislados A₁ como A₂ en zonas próximas a la cuenca del Columbia, y las proporciones predominantes de los primeros aislamientos colectados fueron de los genotipos US-6 y US-7. En las semanas siguientes al hallazgo aparecieron dos nuevos genotipos que eran recombinantes para el grupo de compatibilidad y la aloenzima Gpi.

El empleo del DNA fingerprinting con la sonda RG57 y del halotipo ADNmt revelaron que de un total de 26 aislamientos, 16 resultaron ser genotipos nuevos, con mayor polimorfismo que otros multilocus diferentes. Los cruzamientos realizados en el laboratorio entre US-6 y US-7 aportaron más evidencias que sustentan la hipótesis del surgimiento de estas combinaciones a través de la reproducción sexual, ya que la progenie resultante de estos cruces mostró características idénticas a aquellos genotipos únicos identificados en las poblaciones de campo [Gavino *et al.*, 2000]. Uno de ellos ha sido descrito como US-11 (A₁, Gpi 100/100/111, Pep 100/100), y se ha encontrado en otras regiones de América del Norte desde esa época [Peters *et al.*, 2001]. Los aislados del linaje US-11 son relativamente más agresivos [Miller y Johnson, 1988], tienen estructuras de virulencia complejas y han causado daños sustanciales en los cultivos de papas y tomates en las regiones donde ha sido encontrados [Dorrance *et al.*, 1999].

Otros genotipos que pueden haberse generado por recombinación sexual fueron identificados en Nueva York en 1994; pero es difícil determinar si la reproducción sexual ocurrió *in situ* o si los genotipos recombinantes fueron exportados desde el exterior. Estos eventos crean las bases para afirmar que poblaciones de *P. infestans*, que se reproducen de manera sexual, pudieran establecerse en Estados Unidos y Canadá en un futuro cercano [Miller, 2001].

Los beneficios de la reproducción sexual están bien ilustrados en la biología de *P. infestans*. Se piensa que este evento provee de un mecanismo para eliminar mutacio-

nes deletéreas que pueden acumularse en un linaje asexual y genera genotipos particularmente adaptados [Fry y Smart, 1999].

América Latina

El tizón tardío se considera un problema prioritario en Latinoamérica, ya que sus daños en las áreas de cultivo son altamente significativos, a pesar de que la mayoría de los países dispone de al menos una variedad moderadamente resistente, que en general no se incluye entre las principales que se cultivan. Al respecto, las diferencias entre las poblaciones de *P. infestans* y las condiciones edafoclimáticas de estos países respecto a sus proveedores de semilla de papa dificulta el control de la enfermedad a través de la lucha genética [Núñez, 1999].

En los últimos años se han realizado estudios epidemiológicos de la enfermedad en el área aunque a diferente nivel en México, Costa Rica, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, Argentina y Cuba. El tipo de apareamiento A₂ está reportado en México, Cuba, Brasil, Uruguay, Bolivia, Argentina y Guatemala. En estos dos últimos países es el único grupo de compatibilidad sexual presente; sin embargo, es interesante señalar que el Centro Internacional de la Papa (CIP) y Cooperadores del Programa Nacional en Bolivia han confirmado la identificación de los dos tipos de apareamiento de tizón tardío –A₁ y A₂– en una misma localidad cercana al centro de origen del cultivo, con la existencia de la posibilidad de recombinación sexual, y por tanto el riesgo de formas más virulentas de la enfermedad. Se ha informado en Ecuador, Colombia y Costa Rica solamente la presencia del tipo A₁ [Núñez, 1999].

En Ecuador se han hallado aislamientos con tipo A₂ en especies silvestres de *Solanum* [Ordóñez *et al.*, 2000], y en el caso de Colombia y Perú los estudios demostraron que el tipo A₁ existente pertenece a poblaciones migrantes, que han devastado cultivos de papa en diferentes lugares del mundo [Forbes *et al.*, 1998].

En la mayoría de los países latinos se ha estudiado de algún modo el grado de resistencia a fungicidas, excepto en Panamá. Se encontró resistencia al metalaxyl en México, Honduras, Cuba, Costa Rica, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, Brasil, Argentina y Uruguay [Núñez, 1999].

En Colombia se reportaron niveles de resistencia importantes a dos fungicidas más: cymoxanil y propa-nocarb. Esta situación plantea un problema serio para

el futuro inmediato, debido a que los agricultores continúan con la utilización, fundamentalmente, de la estrategia química como medida de control. Se generan además múltiples inquietudes frente a las medidas relacionadas con el manejo de los fungicidas, factor esencialmente relacionado con la transferencia de tecnología. También en este país el hongo puede sobrevivir en diversos hospederos, lo que constituye un peligro desde el punto de vista epidemiológico en relación con la dispersión de los aislamientos y con las fuentes potenciales de inóculo [Jaramillo *et al.*, 2000].

Respecto a la variabilidad genética del hongo, aparecen reportes en México, Colombia, Ecuador, Perú, Brasil, Argentina, Uruguay, Costa Rica y Chile, y en Bolivia y Guatemala con caracterizaciones de un aislado [Forbes, 1998; Deahl *et al.*, 2001; Secor *et al.*, 2001].

El genotipo US-1, determinado por RFLP fingerprinting con la sonda RG57, se ha encontrado en Brasil, Colombia, Ecuador, Perú y Chile. En México, presumiblemente el centro de origen de *P. infestans*, el hongo se reproduce sexualmente y el concepto de linaje clonal tiene muy poca utilidad [Forbes *et al.*, 1997].

En Costa Rica las distancias genéticas basadas en estudios RAPD –ADN polimórfico amplificado al azar– tuvieron un gran polimorfismo y se logró una buena discriminación de los aislados de esta zona con respecto a los foráneos (US-1, US-18 y EC-1) [Paez *et al.*, 2002]. Por otra parte, en Brasil existen dos linajes clonales con una alta especificidad por el hospedero: US-1 que afecta tomate, y BR-1, que infecta papa [Reis *et al.*, 2002]. Análisis aloenzimáticos revelaron que los aislados uruguayos fueron monomórficos y homocigóticos para los loci que codifican para glucosa 6 fosfato isomerasa y peptidasa (Gpi 100/100, Pep 100/100), y el halotipo mitocondrial fue IIa. Estos aislados son semejantes a aislados de países vecinos, fundamentalmente de Brasil, en términos de tipo de apareamiento y genotipos aloenzimáticos, y otros pertenecen a nuevas poblaciones que predominan actualmente en muchos países [Deahl *et al.*, 2001].

Los análisis de clúster de poblaciones asexuales del patógeno, realizados por Forbes *et al.* (1998), revelaron un nuevo enfoque acerca de la estructura de las poblaciones de *P. infestans* en este continente. Los tipos de apareamiento A₂ detectados en Brasil, Bolivia y Argentina no tuvieron relación entre sí. Los aislados A₂ de Brasil y Bolivia son del mismo genotipo BR-1 (genotipo nuevo). Los genotipos A₂ provenientes de

Argentina parecen estar más relacionados entre ellos que con la variante BR-1. El nuevo genotipo EC-1 –generado por análisis RFLP con la sonda RG57– se ha detectado comúnmente en Ecuador y la parte norte de Colombia.

SITUACIÓN DEL TIZÓN TARDÍO EN CUBA

En la actualidad, el cultivo de la papa en Cuba depende, esencialmente, de las importaciones de semilla asexual de Holanda y Canadá, y en consecuencia el desarrollo del tizón tardío está supeditado en gran medida a la situación fitosanitaria de los tubérculos importados [Pérez, 1995], a la frecuencia, calidad y dinámica de los frentes fríos que entran a la isla y que garantizan condiciones del tiempo favorables para el desarrollo de la epidemia, así como al manejo de la enfermedad en áreas productoras del tubérculo [Gómez, 1999].

Historia de la enfermedad

a) Antes de la campaña 1993-1994

La primera referencia del tizón tardío de la papa en Cuba es de Cook (1906), quien señaló que el cultivo había estado sujeto a otras enfermedades de origen fúngico, además de a la sarna común (*Streptomyces scabies* (Thaxter) Waksman). Jehle (1995) informó que la enfermedad había estado presente en la isla desde hacía muchos años, pero no sabía cuándo y cómo se introdujo. Por su parte, Bruner [Calvino, 1920] la informó como muy destructiva en el follaje. Arango (1930) y Montano [citado por Padrón, 1982] reportaron sobre una epidemia severa en la campaña de 1929-1930, y al año siguiente ocurrió un fuerte ataque en Alquizar y Güines. En 1937 y 1939 fueron reseñadas epidemias por Montano [citado por Padrón, 1982]. Otra epidemia severa ocurrió en 1940-1941 en Las Villas y en La Habana durante este último año. Tamargo (1941) hizo alusión a la más terrible epidemia que los había afectado. En el período comprendido desde 1945-1946 hasta 1947-1948 fue comentada la forma violenta e inesperada en que la enfermedad incidió en tomate, fundamentalmente en la campaña 1946-1947. En la temporada 1948-1949 solo aparecieron algunas manchas en pocas plantas [Tamargo, 1944], y durante la campaña 1951-1952 se señaló que la variedad Red Pontiac fue muy atacada en parcelas experimentales [González, 1952].

En las campañas 1962-1963 y 1964-1965 [López, 1963; Padrón, 1982] y en las de 1963-1964, 1965-1966 y 1968-1969 [Fernández, 1964; INIFAT, 1969] se registraron

epifitotias de tizón tardío en la papa. En las primeras seis campañas de la década del setenta no se presentaron epifitotias en Güira de Melena, pero sí en las tres últimas (1976-1977, 1977-1978 y 1978-1979), lo que en opinión de Padrón (1982) se correspondía en los primeros años con precipitaciones acumuladas escasas, y en los siguientes con precipitaciones superiores a los valores umbrales establecidos por el autor.

Hasta mediados de la década del ochenta del pasado siglo la aparición del tizón estaba caracterizada por brotes intermitentes durante el desarrollo del cultivo, con excepción de 1982-1983, cuando lluvias atípicas y condiciones moderadamente favorables de temperatura favorecieron la evolución epidémica, que fue eficazmente combatida con el metalaxyl. En 1986-1987 también existieron brotes fuertes en diferentes áreas de La Habana y Matanzas. Posteriormente la enfermedad estuvo limitada a la aparición de brotes ligeros o no aparición, debido fundamentalmente a la incidencia de inviernos cálidos [INSMET, 1991]. Ya en 1992-1993 el tizón apareció de forma moderada en diferentes municipios de La Habana, pero fue controlado satisfactoriamente [CNSV, 1993].

b) Campaña 1993-1994

La campaña 1993-1994 se caracterizó por una severa epidemia de tizón tardío, fundamentalmente en La Habana y Matanzas, que produjo afectaciones en 85% del área plantada, en la cual se llegaron a defoliar 58,13 caballerías del cultivo. Entre los factores que contribuyeron a la explosión de la enfermedad estuvieron las condiciones favorables del clima, la falta de detección temprana de las primeras infecciones, la aparición de poblaciones resistentes al metalaxyl, la falta de fungicidas para el control de los primeros brotes y el gran número de siembras tardías [INISAV, 1998]. Los análisis de poblaciones en la sensibilidad al metalaxyl mostraron altos niveles de resistencia, lo que fue indicativo de una posible introducción en la semilla utilizada de cepas tolerantes, fenómeno que ocurría por primera vez en Cuba, pues en regiones donde nunca antes hubo sembrada papa se detectaron poblaciones tolerantes a 10 ppm del producto. En años anteriores un tratamiento de metalaxyl a dosis de 150 g/ha i.a. producía una inhibición completa del desarrollo de las manchas y la esporulación con efecto prolongado de hasta 15 días. Las poblaciones analizadas fueron tratadas con doble dosis, y el efecto inhibitorio no se prolongó más allá de cuatro y seis días, tanto en el caso del

metalaxyl (Ridomil) como el benalaxyl (Galben). Aunque en ese momento el muestreo no fue lo suficientemente representativo, no se detectó la presencia del tipo de apareamiento A_2 [INISAV, 1998].

c) Campaña 1994-1995

Durante este período la incidencia de tizón fue de 6% en el área plantada, y la distribución de focos sensibles al metalaxyl fue mayor que en la etapa anterior. De los aislados, 41,6% resultaron altamente resistentes, 50% fueron medianamente resistentes y solo 8,3% fueron sensibles al metalaxyl [Muiño, 1997]. Además, durante este ciclo del cultivo se determinó monitorear la población del patógeno en la semilla importada como parte de la inspección cuarentenaria, y se halló la presencia del grupo de compatibilidad A_2 en aislamientos con alta resistencia al metalaxyl realizados a partir de tubérculos de papa provenientes de Holanda y Canadá. En años posteriores Tomas (1999) tuvo resultados similares para semillas importadas, y la frecuencia de aislados A_2 resultó mayor con respecto a los del grupo de compatibilidad A_1 .

d) Campaña 1995-1996

En la etapa de desarrollo del cultivo 1995-1996 se detectó el grupo A_2 por primera vez en los campos de papa con una frecuencia de aparición de 9,4%, genotipo introducido en la semilla agámica importada [López y Tomas, 1997]. La mayor cantidad de aislamientos A_2 se obtuvo en la localidad de Güines, con una frecuencia de aparición de 21,5%, región en la que la población de *P. infestans* de ese grupo de compatibilidad se ha incrementado en relación con otras localidades durante las campañas analizadas, y en la cual se obtuvieron oosporas en condiciones controladas a partir de lesiones causadas por este hongo [Tomas, 1999].

e) Campañas de 1996-1997 a 1998-1999

Durante la campaña 1996-1997 se presentaron epidemias de la enfermedad en las provincias de La Habana y Matanzas, y se hallaron aislados del tipo de apareamiento A_1 en una frecuencia de 91,7%. A partir del período 1997-1998 se incrementó considerablemente la presencia de aislamientos con tipo de apareamiento A_2 con porcentajes de aparición superiores a 90% [Tomas, 1999]. De manera general, durante este ciclo de desarrollo del cultivo no existieron brotes fuertes de la enfermedad. La mayor incidencia se reportó en La Habana con 53% de área afectada [INISAV, 1998]. En la campaña 1998-1999 resultaron altamente resistentes

22,7% de los aislados, 27,2% medianamente resistentes e igual porcentaje fueron completamente sensibles al metalaxyl. De un total de 21 aislamientos, 61,9% fue A_2 . En estudios de las poblaciones de *P. infestans* en el período comprendido de 1994 a 1999, en la determinación de los grupos de compatibilidad sexual se halló que de un total de 237 aislamientos, 62,1% fue A_1 , y el tipo A_2 apareció con una frecuencia de 36,8% [Tomas, 1999]. Durante las campañas 1999-2000, 2000-2001 y 2001-2002 no existieron brotes fuertes de la enfermedad.

Detección de *Phytophthora nicotianae*

Un aspecto de interés constituye el hallazgo de *P. nicotianae* en plantaciones de papa del país al causar síntomas muy similares al tizón tardío. Desde 1992-1993 los especialistas del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Villa Clara [Álvarez, 1996, comunicación personal] detectaron *P. nicotianae* en el follaje de plantas de papa en el valle de Yabú, la que no presentaba mildiu blanco por el envés de la hoja característico de *P. infestans*. En 1994-1995 y 1995-1996 también existieron brotes de intensidad ligera en diferentes localidades de esa provincia. Igualmente *P. nicotianae* fue aislada de muestras supuestamente de tizón tardío procedentes de Alquizar y Güines, provincia de La Habana, en febrero y marzo de 1998, respectivamente [Tomas, 1999]. Cuando se analizaron los datos climáticos precedentes a la toma de los foliolos, se observó que durante toda la campaña existieron, además de períodos favorables para el tizón tardío, períodos de alta humedad a consecuencia de lo lluviosa de la estación, y temperaturas máximas superiores a 28°C, que por los requerimientos de este patógeno beneficia su aparición y desarrollo [Gómez, Guadalupe, inédito]. Semejante problemática se presentó durante la campaña 2001-2002, donde de un total de 20 aislamientos, dos fueron de *P. nicotianae* en papa.

Estos resultados tienen gran influencia en la epidemiología de la enfermedad, si además se agrega que un estudio *in vitro*, de cruzamiento entre cepas de *P. nicotianae*, aisladas de tabaco, y una cepa A_1 de *P. infestans* de papa, resultó en la formación de oosporas [Fernández, 1998]. La posibilidad de que exista la fase sexual en la naturaleza representa una fuente de gran variabilidad para estos patógenos, lo que constituye un aspecto por considerar en el manejo integrado de la enfermedad.

De manera general, la diversidad fenotípica del patógeno es alta en la resistencia al metalaxyl, causada po-

siblemente por la introducción en el país de aislamientos con altos niveles de resistencia, lo que provoca problemas de control en campo si no se aplican correctamente las medidas de prevención y control de la enfermedad [García *et al.*, 2000]. Se observa además un incremento en la población fúngica A_2 durante los últimos años, posiblemente relacionado con la importación de semilla agámica. Desdichadamente no se han realizado hasta la fecha caracterizaciones genotípicas de las poblaciones cubanas de *P. infestans*, lo que limita en ocasiones los análisis de variabilidad del patógeno en el país.

Si se tiene en cuenta que en los últimos diez años Cuba es dependiente de la importación de semilla asexual de papa, proveniente fundamentalmente de Holanda y Canadá, donde las poblaciones de *P. infestans* muestran alta resistencia al metalaxyl y existe una gran variabilidad genética, incluso con la ocurrencia de reproducción sexual, y que en la isla existe una marcada variación en el comportamiento de la enfermedad a partir de la campaña 1993-1994, pudiera esperarse la presencia de poblaciones genéticamente diversas relacionadas en alguna medida con las presentes en esos países o variantes únicamente encontradas en el país. El empleo de marcadores bioquímicos y moleculares brinda una valiosa información que permitiría responder algunas de estas incógnitas y otras, con la finalidad de perfeccionar el manejo integrado del tizón tardío, que logre un control eficaz bajo las nuevas condiciones.

CONCLUSIONES

- Mundialmente se acepta la teoría de que el origen de *Phytophthora infestans* es México central.
- Solo el linaje clonal US-1 estuvo presente en todo el mundo antes de la segunda migración global de *P. infestans* durante 1976-1977, que fue el causante de la hambruna irlandesa en 1845.
- La segunda migración del patógeno implicó la introducción en Europa del grupo de compatibilidad sexual A_2 y nuevos genotipos A_1 , así como la ocurrencia de reproducción sexual en Holanda y Polonia.
- El tizón tardío en América del Norte está caracterizado por un rápido incremento de la incidencia y severidad, y por el cambio dramático en las poblaciones del patógeno, existen genotipos más agresivos, adaptados y virulentos, altos porcentajes de tipo de

apareamiento A_2 , mayor posibilidad de reproducirse sexualmente y ser resistentes a ciertos fungicidas.

- En América Latina existe poca información referente a la variabilidad genética de las poblaciones de *P. infestans*. Se realizan investigaciones sobre la epidemiología, resistencia genética, resistencia a fungicidas y estrategias de manejo de la enfermedad.
- En Cuba, a partir de la campaña 1993-1994, el comportamiento epidemiológico del tizón tardío varió, y se detectó gran variabilidad en la resistencia al metalaxyl y al aumento del grupo de compatibilidad sexual A_2 .
- Se desconocen otras fuentes de inóculo primario de *P. infestans*, además de la introducción del patógeno en los tubérculos de semilla importados y existen algunas incógnitas referentes al papel que pueda desempeñar *P. nicotianae* en la epidemiología del tizón tardío en un futuro cercano.

REFERENCIAS

- Abad, Z. G.; J. A. Abad: «Historical Evidence on the Occurrence of Late Blight of Potato, Tomato and Pear Melon in the Andes of South America», *Phytophthora infestans* 150, Dublin, Irlanda, 1995, pp. 36-41.
- : «Another Look at the Origin of Late Blight of Potatoes, Tomatoes and Pear Melon in the Andes of South America», *Plant Disease* 81:682-688, 1997.
- Alexopoulos, C. J.; C. W. Mims; M. Backwell: *Introductory Mycology*, John Wiley and Sons, New York, 1996, pp. 717-723.
- Andrison, D.: «The Origin of *Phytophthora infestans* Populations Present in Europe in the 1840s: a Critical Review of Historical and Scientific Evidence», *Plant Pathology* 45:1027-1035, 1996.
- Arango, O.: «Carta al director de la Estación Agronómica de Santiago de las Vegas», Archivo de la Estación Agronómica de Santiago de las Vegas, Legajo 403, Expediente 5, La Habana, 1930.
- Bakonyi, J.; M. Laday; T. Dula; T. Ersek: «Characterization of Isolates of *Phytophthora infestans* from Hungary», *European Journal of Plant Pathology* 108(2):139-146, 2002.
- Bourque, A.: *The Visitation of God? The Potato and the Great Irish Famine*, Lilliput Press, Arbour Hill, Dublin, Irlanda, 1993.
- Calvino, M.: «Informe de los años 1918-1919 y 1919-1920 de la Estación Agronómica de Santiago de las Vegas», Secretaría de Agricultura, Comercio y Trabajo, Santiago de las Vegas, La Habana, 1920.
- Clarkson, L. A.: «Conclusion: Famine and Irish History», *Famine: the Irish Experience 900-1900*, John Donald Publishers, Edimburgo, 1989, pp. 220-236.
- CNSV: «Informe fitosanitario del cultivo de la papa. Campaña 1992-1993», Departamento Protección de Plantas, MINAGRI, 1993.
- : «Informe fitosanitario del cultivo de la papa. Campaña 1994-1995», Departamento Protección de Plantas, MINAGRI, 1995.
- : «Informe fitosanitario del cultivo de la papa. Campaña 1995-1996», Departamento Protección de Plantas, MINAGRI, 1996.
- : «Informe fitosanitario del cultivo de la papa. Campaña 1998-1999», Departamento Protección de Plantas, MINAGRI, 1999.
- Cook, T. M.: *Primer informe anual de la Estación Central Agronómica de Cuba. 1 de abril de 1904-30 de junio 1905*, Imprenta y Papelería La Universal, La Habana, 1906.
- Cooke, D. E. L.; A. K. Lees; V. Young; P. R. J. Birch; S. Hussain; R. Toth; F. Gourlay; S. F. Carnegie; J. M. Duncan: «*Phytophthora infestans* Populations in Scotland: The Implications of Mixed Mating Types on Potato Late Blight Management», Abstract for the GILB 2002 Conference. Late Blight: Managing the Global Threat, 11-13 July 2002, Hamburg, Alemania, 2002.
- Cox, A. E.; E. C. Large: *Potato Blight Epidemics Throughout the World*, U.S. Dep. Agric. Handburgo, 1960.
- Daayf, F.; H. W. Platt; G. Hahuku; R. D. Peters: «Relationships Between Pathotypes and RAPD, Gpi-Allozyme Patterns, Mating Types and Resistance to Metalaxyl of *Phytophthora infestans* in Canada in 1997», *American Journal of Potato Research* 78:129-139, 2001.
- Deahl, K. L.; R. Jones: «The Occurrence of Late Blight in North America», Proceedings of the Global Initiative on Late Blight Conference, March 16-19, Ecuador, 1999, pp. 15-17.
- Deahl, K. L.; R. W. Goth; R. J. Young; S. L. Sinden; M. E. Galegly: «Occurrence of the A_2 Mating Type of *Phytophthora infestans* in the United States and Canada», *American Potato Journal* 68:717-725, 1991.
- Deahl, K. L.; M. C. Pagnani; F. M. Pérez; B. Moravea; L. R. Cooke: «Characterization of Late Blight in Uruguay», The 85 th Annual Meeting of Potato Association of America. Abstracts & Program, April 22-26, University of Florida, 2001.
- Dorrance, A. E.; D. A. Inglis; M. L. Derie; C. R. Brown; S. B. Goodwin; W. E. Fry; K. L. Deahl: «Characterization of *Phytophthora infestans* Populations in Western Washington», *Plant Disease* 83:423-428, 1999.
- Dowley, L. J.: «The Potato and Late Blight in Ireland», *Famine 150 Commemorative Lecture Series*, Teagasc, Dublin, 1997, pp. 49-65.
- Drenth, A.; S. B. Goodwin; W. E. Fry; L. C. Davidse: «Genotypic Diversity of *Phytophthora infestans* in the Netherlands Revealed by DNA Polymorphisms», *Phytopathology* 83:1087-1092, 1993.
- Drenth, A.; I. C. Q. Tas; F. Govers: «DNA Fingerprinting Uncovers a New Sexually Reproducing Population of *Phytophthora infestans* in the Netherlands», *European Journal Plant Pathology* 100:97-107, 1994.
- Fernández, Ana: «Biología, epifitología, nocividad y control de *Phytophthora nicotianae* (= *Phytophthora parasitica*) en tabaco». Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, INISAV, La Habana, 1998.
- Fernández, R. M.: «Informe fitosanitario de las variedades de papa europeas sembradas en el lote 26 de la Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas», Archivo de la Est. Exp. Agron. de Santiago de las Vegas, Legajo 403, Expediente 83, La Habana, 1964.
- Flores, A.; V. Olalde: «Detección de oosporas de *Phytophthora infestans* de suelo», Memorias XIX Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa, feb.-mar., La Habana, 2000.
- Forbes, G. A.; X. C. Escobar; C. C. Ayala; J. Revelo; M. E. Ordóñez; B. A. Fry; K. Doucet; W. E. Fry: «Population Genetic Structure of *Phytophthora infestans* in Ecuador», *Phytopathology* 87:375-380, 1997.
- Forbes, G. A.; S. B. Goodwin; A. Drenth; P. Oyarzun; M. E. Ordóñez; W. E. Fry: «A Global Marker Database for *Phytophthora infestans*», *Plant Disease* 82:811-818, 1998.
- Fry, W. E.; S. B. Goodwin; A. T. Dyer; J. M. Matuszak; A. Drenth; P. W. Tooley; L. S. Sujkowski; Y. J. Koh; B. A. Cohen; L. J. Spielman; K. L. Deahl; D. A. Inglis; K. P. Sandlan: «Historical and Recent Migrations of *Phytophthora infestans*: Chronology, Pathways and Implications», *Plant Disease* 77:653-661, 1993.

- Fry, W. E.; S. B. Goodwin: «Resurgence of the Irish Potato Famine Fungus», *Bio-Science* 47:363-371, 1997.
- Fry, W. E.; C. D. Smart: «The Return of *Phytophthora infestans*, a Potato Pathogen that Just Won't Quit», *Potato Research* 42:279-282, 1999.
- Gallegly, M. E.; J. Galindo: «Mating Types and Oospores of *Phytophthora infestans* in Nature in México», *Phytopathology* 48:274-277, 1958.
- García, T.; B. L. Muíño; D. Marín; Y. Tomas; M. Espino: «Detección de aislamientos de *Phytophthora infestans* resistentes al metalaxyl en semillas de papa de importación», Memorias XIX Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa, feb.-mar., La Habana, 2000.
- P. D. Gavino; C. D. Smart; R. W. Sandrock; J. S. Miller; P. B. Hamm; T. Yun Lee; R. M. Davis; W. E. Fry: «Implications of Sexual Reproduction of *Phytophthora infestans* in the United States: Generation of an Aggressive Lineage», *Plant Disease* 84:731-735, 2000.
- Gómez, G.: «Sistema de alerta temprana para el tizón tardío [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary de la papa en Cuba]. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, INISAV, 1999.
- González, D. E.: «Estudio comparativo de variedades de papa Canso y Pontiac», *Agrotecnia*, 7:12-16, jul.-ag., La Habana, 1952.
- Goodwin, S. B.; L. J. Spielman; J. M. Metuszk; S. N. Bergeron; W. E. Fry: «Clonal Diversity and Genetic Differentiation of *Phytophthora infestans* Populations in Northern and Central México», *Phytopathology* 82:955-961, 1992.
- Goodwin, S. B.; B. A. Cohen; W. E. Fry: «Panglobal Distribution of a Single Clonal Lineage of the Irish Potato Famine Fungus», *Proceedings of the National Academy Of Sciences* 91:11591-11595, Estados Unidos, 1994.
- Goodwin, S. B.; L. S. Sujkowski; A. T. Dyer; B. A. Fry; W. E. Fry: «Direct Detection of Gene Flow and Probable Sexual Reproduction of *Phytophthora infestans* in Northern North America», *Phytopathology* 85:473-479, 1995.
- Goodwin, S. B.; L. S. Sujkowski; W. E. Fry: «Widespread Distribution and Probable Origin of Resistance to Metalaxyl in Clonal Genotypes of *Phytophthora infestans* in the United States and Western Canada», *Phytopathology* 86:793-800, 1996.
- Goodwin, S. B.: «The Population Genetics of *Phytophthora*», *Phytopathology* 87:462-473, 1997.
- Goodwin, S. B.; C. D. Smart; R. W. Sandrock; K. L. Deahl; Z. K. Punja; W. E. Fry: «Genetic Change Within Populations of *Phytophthora infestans* in the United States and Canada During 1994 to 1996: Role of Migration and Recombination», *Phytopathology* 88:939-949, 1998.
- Gregory, P. H.: Some Major Epidemics Caused by *Phytophthora*, *Phytophthora: its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology*, American Phytopathological Society, St. Paul, Mn., 1983, pp. 271-278.
- Hawkes, J. G.: «Significance of Wild Species and Primitive Forms for Potato Breeding», *Euphytica* 7:257-270, 1958.
- Heremans, B.; G. Jamart: «Genetic Structure of Late Blight Population in Belgium». *Proceedings of the workshop on the European network for development of an integrated control strategy of potato late blight*, Bélgica, 2000, pp. 55-60.
- Hohl, H. R.; K. Iselin: «Strain of *Phytophthora infestans* with A₂ Mating Type Behaviour», *Trans. Br. Mycol. Soc.* 83:529-530, 1984.
- INIFAT: «Informe sobre análisis realizado a plantas de papa de Consolación del Sur en Pinar del Río», Archivo de la Est. Exp. Agron. de Santiago de las Vegas, Legajo 403, Expediente 96, La Habana, 1969.
- INISAV: «Informe sobre la estrategia fitosanitaria del cultivo de la papa en la provincia de Matanzas y resultados hasta el 6/3/98», documento interno, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, La Habana, 1998.
- INSMET: *Boletín de la Vigilancia del Clima* 2(1), enero, La Habana, 1991.
- Jaramillo, S.; M. E. Márquez; J. Bautista; E. J. Márquez; L. Afanador; R. Arango; E. Gilchrist; O. Trillos; J. L. Zapata: «Caracterización genética del patosistema *Phytophthora infestans* / *Solanum tuberosum* y su relación con polimorfismos moleculares», Memorias XIX Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa, feb.-mar., La Habana, 2000.
- Jehle, A. R.: *El tizón tardío y la pudrición de la papa*, Circular 48, Imprenta y Papelería de Rambla, Bouza y Pi y Margall, 1915.
- Lebreton, L.; S. Duvauchelle; D. Andrivon: «Occurrence in France and Belgium of A₂ Mating Type Isolates of *Phytophthora infestans* in 1995», Abstracts of Conference Papers, Posters and Demonstrations, 13th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, July, Veldhoven, Holanda, 1996, pp. 262-264.
- Legard, D. E.; T. Y. Lee; W. E. Fry: «Pathogenic Specialization in *Phytophthora infestans*: Aggressiveness on Tomato», *Phytopathology* 85:1356-1361, 1995.
- Leung, H.; R. J. Nelson; J. E. Leach: Population Structure of Plant Pathogenic Fungi and Bacteria, *Advances in Plant Pathology*, Academic Press, New York, 1993, pp. 157-205.
- López, A.: «Memorandum sobre revisión de muestras de diferentes fincas de La Salud, Artemisa y Quivicán», Archivo de la Est. Exp. Agron. de Santiago de las Vegas, Legajo 403, Expediente 81, La Habana, 1963.
- López, M. O.; Y. Tomas: «Distribución e importancia del grupo de cruzamiento A₂ de *Phytophthora infestans* en Cuba», III Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, Resúmenes, INISAV, 23-27 de junio, La Habana, 1997, pp. 68 y 69.
- Maleeva J. V.; D. G. Naumoff; S. P. Yatsentiuk; A. V. Dolgova; A. A. Kolesnikov: «Variation in the Sequence of mtDNA in *Phytophthora infestans* on Potato and Tomato Plant in Russia», Abstracts of Conference Papers, Posters and Demonstrations, 13th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, Veldhoven, Holanda, July, 1996, pp. 264 y 265.
- McLeod, A.; S. Denman; A. Sadie; F. D. N. Denner: «Characterization of South African Isolates of *Phytophthora infestans*», *Plant Disease* 85:287-291, 2001.
- Miller, J.: «The Significance of Sexual Reproduction in *Phytophthora infestans* Epidemiology», *GILB Newsletter* no. 14:1-3, 2001.
- Miller, J. S.; D. A. Johnson: «Aggressiveness of Isolates of *Phytophthora infestans* from Columbia Basin of Washington and Oregon», *Phytopathology* 88:190-197, 1988.
- Mills, W. R.; J. S. Niederhauser: «Observations on Races of *Phytophthora infestans* in México», *Phytopathology* 43:454-455, 1953.
- Moeller, K.; W. Flier; J. Habermeyer: «Characterization of German Isolates of *Phytophthora infestans* by Mating Types, Fungicide Resistance, mtDNA Haplotyping and AFLP Fingerprinting», <http://www.cipotato.org/gilb/Conf2002/AbstractsofthePathogen.pdf>, 2002.
- Muñoz, B.: «Manejo de la resistencia a las fenilamidas en especies de Oomycetes en Cuba». Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, INISAV, MINAGRI, 1997, p. 83.
- Núñez, C. E.: «The Current Status of Late Blight in Latin America», *Proceedings of the Global Initiative on Late Blight Conference*, March, Quito, Ecuador, 1999.
- M. E. Ordóñez; H. R. Hohl; J. A. Velasco; M. P. Ramón; P. J. Oyarzun; C. D. Smart; W. E. Fry; G. A. Forbes; L. J. Erselius: «A Novel Population of *Phytophthora* Similar to *Phytophthora infestans*, Attacks Wild *Solanum* Species in Ecuador», *Phytopathology* 90:197-202, 2000.
- Oyarzun, P. J.; A. Pozo; M. E. Ordóñez; K. Doucet; G. A. Forbes: «Host Specificity of *Phytophthora infestans* on Tomato and Potato in Ecuador», *Phytopathology* 88:265-271, 1997.

- Padrón, S. J.: «Umbral de lluvia para el pronóstico del tizón tardío en Cuba», *Ciencia y Técnica en la Agricultura, Serie de Protección de Plantas* 5(2):77-85, La Habana, 1982.
- Páez, O.; M. Barquero; A. Brenes; L. Gómez; R. Valverde: «Genetic and Physiological Composition of *Phytophthora infestans* Population in Potato in Costa Rica», <http://www.cipotato.org/gilb/Conf2002/AbstractsofthePathogen.pdf>, 2002.
- Pérez, L.: «*Phytophthora infestans* (Mont) de Bary: genética poblacional, migraciones intercontinentales y sus implicaciones en el control. Situación en Cuba», Seminario de Refrescamiento para alumnos del Curso Internacional de la Papa de América Latina y el Caribe, Centro Internacional de Agricultura de Holanda / Ministerio de la Agricultura de Cuba, feb.-mar. 1995.
- Peters, R. D.; H. Foster; H. W. Platt; R. Hall; M. D. Coffey: «Novel Genotypes of *Phytophthora infestans* in Canada During 1994 and 1995», *American Journal of Potato Research* 78:39-45, 2001.
- Reddick, D.: «Whence Came *Phytophthora infestans*?», *Chronica Botanica* 5:410-412, 1939.
- : «Development of Blight Immune Varieties», *American Potato Journal* 20:118-126, 1943.
- Reis, A.; N. Dias Suassuna; J. M. Maziero; L. A. Maffia; E. S. G. Mizubuti: «*Phytophthora infestans* Populations in Brazil: Current Status and Epidemiological Features», <http://www.cipotato.org/gilb/Conf2002/AbstractsofthePathogen.pdf>, 2002.
- Secor, G. A.; V. V. Rivera; F. Riveros: «Partial Characterization of *Phytophthora infestans* Isolates from Chile», The 85th Annual Meeting of Potato Association of America. Abstracts & Program, April 22-26, University of Florida, 2001.
- Sengooba, T.; J. J. Hakiza: «The Current Status of Late Blight Caused by *Phytophthora infestans* in Africa, with Emphasis on Eastern and Southern Africa», Proceedings of the Global Initiative on Late Blight Conference, Volume I, March 16-19, Quito, Ecuador, 1999.
- Sing, B. P.: «Population Dynamics and Structure of Potato Late Blight Pathogen *P. infestans* in India Sub-tropics», Proceedings of the Global Initiative on Late Blight Conference, Volume I, March 16-19, Quito, Ecuador, 1999, pp. 132 y 133.
- Smart, C. D.; M. R. Willman; H. Mayton; E. S. G. Mizubuti; R. W. Sandrock; A. E. Muldoon; W. E. Fry: «Self-Fertility in Two Clonal Lineages of *Phytophthora infestans*», *Fungal Genetics and Biology* 25:134-142, 1998.
- Spielman, L. J.: Isoenzymes and Population Genetics of *Phytophthora infestans*, *Phytophthora*, Cambridge University Press, Cambridge, 1991, pp 231-241.
- Spielman, L. J.; A. Drenth; L. C. Davidse; L. S. Sujkowski; W. K. Gu; P. W. Tooley; W. E. Fry: «A Second World-Wide Migration and Population Displacement of *Phytophthora infestans*?», *Plant Pathology* 40:422-430, 1991.
- Stevens, N. E.: «The Dark Ages in Plant Pathology in America: 1830-1870», *Journal Wash. Academy Science* 23:435-446, 1933.
- Sujkowski, L. S.; S. B. Goodwin; A. T. Dyer; W. E. Fry: «Increased Genotypic Diversity Via Migration and Possible Occurrence of Sexual Reproduction of *Phytophthora infestans* in Poland», *Phytopathology* 84:201-207, 1994.
- Tamargo, A. M.: «El control de las fuentes abastecedoras de papa semilla como medida eliminadora del tizón tardío en Cuba», *Agronomía* 194, La Habana, agosto 1941.
- Tomas, Y.: «Reproducción, sobrevivencia y estudio de algunos aspectos biológicos de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary». Tesis en opción del grado académico de Máster en Protección Vegetal, INISAV, MINAGRI, 1999.
- Tooley, P. W.; C. D. Therrien; D. L. Ritch: «Mating Type, Race Composition, Nuclear DNA Content and Isozyme Analysis of Peruvian Isolates of *Phytophthora infestans*», *Phytopathology* 79:478-481, 1989.
- Vega-Sánchez, M. E.; L. J. Ersenius; A. M. Rodríguez; O. Bastidas; H. R. Hohl; P. S. Ojiambo; J. Mukalazi; T. Verneulan; W. E. Fry: «Host Adaption to Potato and Tomato Within the US-1 Clonal Lineage of *Phytophthora infestans* in Uganda and Kenya», *Plant Pathology* 49:531-539, 2000.
- Wei, H.; J. Wang; E. Chujoy; Y. Yanli; W. Yi; Z. Zhang; X. Kaiyun: «Potato Late Blight (*Phytophthora infestans*) Situation in Asia with Special Reference to China», Proceedings of the Global Initiative on Late Blight Conference, March 16-19, Ecuador, 1999, pp. 22-24.
- Zhang, Z.; L. Yuquin; S. Tian; J. Zhu: «Study on Biology of *Phytophthora infestans* in China», <http://www.cipotato.org/gilb/Conf2002/AbstractsofthePathogen.pdf>, 2002.
- Zentmyer, G. A.: «The World of *Phytophthora*», *Phytophthora: its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology*, American Phytopathological Society, St. Paul, Mn., 1983, pp 1-7.
- Zimnoch-Guzowska, E.: «Late Blight and Late Blight Research in Central and Eastern Europe», Proceedings of the Global Initiative on Late Blight Conference, March 16-19, Ecuador, 1999, pp. 9-14.
- Zwankhuizen, M. J.; F. Govers; J. C. Zadok: «Inoculum Sources and Genotypic Diversity of *Phytophthora infestans* in Southern Flevoland, The Netherlands», *European Journal of Plant Pathology* 106:667-680, 2000.