

CARACTERIZACIÓN DE POBLACIONES DE *Phytophthora infestans* (MONT, DE BARY) OBTENIDAS DE *Solanum* TRANSGÉNICAS Y DE HÍBRIDOS SOMÁTICOS RESISTENTES

Hector Lozoya-Saldaña, Claudia Rocío Belmar-Díaz, James M. Bradeen y John P. Helgeson

RESUMEN

En el valle de Toluca, México, durante el verano de 2003, clones obtenidos por ingeniería genética y por hibridación somática entre *Solanum tuberosum* y *S. bulbocastanum* fueron expuestos a infección natural por *Phytophthora infestans*, a fin de cuantificar su resistencia al oomiceto, previamente comprobada en otras condiciones. El objetivo fue identificar los genotipos de *P. infestans* que selectiva y progresivamente infectaron a los clones de papa. La mayoría de éstos fueron resistentes en los estados tempranos de crecimiento, aunque se presentó infección gradual posteriormente. Se identificaron 21 variantes de *P. infestans* con base al tipo de compatibilidad (TC) y a los perfiles multilocus aloenzimáticos de glucosa-6-fosfato isomerasa (GPI) y peptidasa (PEP). A la sexta semana postsiembra se obtuvieron las primeras infecciones por

cinco aislamientos en el testigo no transformado (H6, cv. Katahdin). A la siguiente semana, en el mismo hospedante, se aislaron otros cinco genotipos de *P. infestans*, cuatro de ellos diferentes a los de la semana anterior, y se presentaron otros cuatro genotipos en un clon que no adquirió la transgenia (H4). Ambos clones murieron a la mitad del ciclo de cultivo. Los genotipos más frecuentes infectando todos los clones, principalmente al final del ciclo, fueron A1, 100/100, 100/100 (TC, GPI, PEP, 19%), y A2, 100/100, 100/100 (14%). La proporción A1:A2 para toda la población fue 1:1 (86,77; 52,7%:47,3%). Se concluye que hubo gran diversidad genética de *P. infestans*, que los transgenes que confieren la resistencia funcionaron bien en plantas jóvenes, al principio del ciclo de cultivo, y no se observó especificidad hospedero-patógeno.

Introducción

El valle de Toluca hay una gran diversidad genética de *Phytophthora infestans* Mont. De Bary, oomiceto causante del tizón tardío de la papa y el jitomate, gracias a la incidencia, en igualdad de proporciones, de los dos tipos de compatibilidad (Gallegly y Galindo, 1958; Goodwin, 1996; Grünwald *et al.*, 2001). Además, altiplano mexicano es considerado como el segundo centro de diversificación de especies de papa (*Solanum* spp.) después del área andina de Perú, Bolivia y Chile (Hawkes, 1994; Spooner *et al.*, 2004). Por consiguiente, muchas de las especies mexicanas de *Solanum*, al convivir con el patógeno en la naturaleza, han desarrollado genes de resistencia (Flores-Crespo, 1969). Esto

ha implicado que para el mejoramiento genético de la papa se busque dicha resistencia en las plantas silvestres del valle, y que la prueba de fuego para demostrar la resistencia sea la exposición de los genotipos a la infección natural por el oomiceto en el valle. *Solanum bulbocastanum* es una especie mexicana históricamente reconocida como resistente (Reddick, 1939; Niederhauser y Mills, 1953; Graham *et al.*, 1959) pero, por su naturaleza diploide, tradicionalmente no ha sido cruzada con la papa cultivada (tetraploide). Recientemente se han generado híbridos somáticos entre *S. bulbocastanum* y *S. tuberosum* (Helgeson *et al.*, 1998) y plantas transgénicas que han demostrado su resistencia a la enfermedad bajo condiciones de invernadero (Naess *et al.*, 2000; Song *et al.*, 2003). En

el presente trabajo se describe la exposición de estos clones al tizón tardío en Toluca, con el objetivo de describir las variantes de *P. infestans* que los infectan, y de demostrar su resistencia al exponerlos a las severas condiciones de infección natural y de presión de la enfermedad del valle.

Materiales y Métodos

Los clones de papa incluidos en este estudio fueron proporcionados por John P. Helgeson y James Bradeen de la Universidad de Wisconsin-Madison, EEUU. Los híbridos somáticos, hexaploides ($2n = 6x = 72$), resultaron de la fusión de células entre *S. tuberosum*, tetraploide ($2n = 4x = 48$) y *S. bulbocastanum*, diploide ($2n = 2x = 24$; Helgeson *et al.*, 1998). En retrocruzadas posteriores se ubicó

a la resistencia en el cromosoma 8 (Naess *et al.*, 2000). La transgenia se obtuvo mediante la incorporación de los genes de resistencia RB y de enriquecimiento de leucina de *S. bulbocastanum* en *Agrobacterium tumefaciens* desarmado, línea LBA4404, con el vector binario de transformación pBINPlus-ARS, mediante electroporación, para la posterior introducción de los genes a la variedad receptora Katahdin (Song *et al.*, 2003). De los nueve genotipos de papa incluidos, cuatro adquirieron la transgenia (H1, SP904; H2, SP920; H3, SP925; y H5, SP951), uno no la adquirió (H4, SP946), tres fueron híbridos somáticos (H7, J101K6; H8, J103K7; y H9, J101k6A22), y por último se tuvo a la variedad Katahdin sin transformar, como testigo (H6).

PALABRAS CLAVE / Mejoramiento Genético / *Phytophthora infestans* / *Solanum* / Tizón Tardío /

Recibido: 21/12/2009. Aceptado: 03/09/2010.

Hector Lozoya-Saldaña. Doctor en Fitotecnia y Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo (UACH) México. Profesor, UACH, México. Dirección: Km. 38.5, carretera federal México-Texcoco, Chapingo,

Estado de México 56230, México. e-mail: picti87@gmail.com
Claudia Rocío Belmar-Díaz. Estudiante Graduada en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad Autónoma del Estado de México. Técnica

laboratorista, PICTIPAPA, Metepec, México.

James M. Bradeen. Ph.D. En Patología Vegetal y Biotecnología, University of Wisconsin-Madison, EEUU. Profesor,

University of Minnesota, EEUU.

John P. Helgeson. Ph.D. En Botánica, University of Wisconsin-Madison, EEUU. Investigador, USDA/ARS, University of Wisconsin-Madison, EEUU.

CARACTERIZATION OF *Phytophthora infestans* (MONT, DE BARY) POPULATIONS OBTAINED FROM TRANSGENIC AND RESISTANT SOMATIC *Solanum* HYBRIDS

Hector Lozoya-Saldaña, Claudia Rocío Belmar-Díaz, James M. Bradeen and John P. Helgeson

SUMMARY

In the Toluca Valley, México, in the summer of 2003, clones obtained by genetic engineering and somatic hybridization between *Solanum tuberosum* and *S. bulbocastanum* were exposed to natural infection by *Phytophthora infestans* in order to quantify their resistance to the oomycete, previously proven under different conditions. The objective was to identify the *P. infestans* genotypes that selectively and progressively infected the potato clones. Most clones were resistant in the early growing stages, although gradual infection showed up later in the cycle. Twenty two *P. infestans* variants were identified on the basis of mating type (MT) and on the allozymatic multilocus profiles for glucose-6-phosphate isomerase (GPI) and peptidase (PEP). Six weeks after planting the first infections by five iso-

lates were obtained in the non transformed control (H6, cv. Katahdin). A week later, other five *P. infestans* genotypes were isolated in the same host, four of which were different to the ones obtained the previous week. At the same time, other four genotypes were obtained in another clone that did not acquire the transgene (H4). Both clones died at midseason. The *P. infestans* genotypes infecting most frequently all the clones, mainly at the end of the cycle, were A1, 100/100, 100/100 (MT, GPI, PEP; 19%), and A2, 100/100, 100/100 (14%). The A1:A2 ratio for all the population was 1:1 (86.77; 52.7%:47.3%). It is concluded that a great *P. infestans* genetic diversity was present; the transgenes conferring resistance worked well in young plants early in the cycle, and no host-pathogen specificity was observed.

CARACTERIZAÇÃO DE POPULAÇÕES DE *Phytophthora infestans* (MONT) DE BARY OBTIDAS DE *Solanum* TRANSGÊNICAS E DE HÍBRIDOS SOMÁTICOS RESISTENTES

Hector Lozoya-Saldaña, Claudia Rocío Belmar-Díaz, James M. Bradeen e John P. Helgeson

RESUMO

No vale de Toluca, México, durante o verão de 2003, clones obtidos por engenharia genética e por hibridação somática entre *Solanum tuberosum* e *S. bulbocastanum* foram expostos a infecção natural por *Phytophthora infestans*, com o fim de quantificar sua resistência a oomiceto, previamente comprovada em outras condições. O objetivo foi identificar os genótipos de *P. infestans* que, seletiva e progressivamente, infectaram os clones de batata. A maioria destes foram resistentes nos estados tempranos de crescimento, ainda que se apresentou infecção gradual posteriormente. Identificaram-se 21 variantes de *P. infestans* baseado no tipo de compatibilidade (TC) e nos perfis multilocus aloenzimáticos de glicose-6-fosfato isomerase (GPI) e peptidase (PEP). Na sexta semana pós-plantio foram obtidas as primeiras infecções por cinco isolamentos no testemunho

não transformado (H6, cv. Katahdin). Na seguinte semana, no mesmo hospedeiro, foram isolados outros cinco genótipos de *P. infestans*, quatro deles diferentes aos da semana anterior, e se apresentaram outros quatro genótipos em um clone que não adquiriu a transgenia (H4). Ambos clones morreram na metade do ciclo de cultivo. Os genótipos mais frequentes infectando todos os clones, principalmente ao final do ciclo, foram A1, 100/100, 100/100 (TC, GPI, PEP, 19%), e A2, 100/100, 100/100 (14%). A proporção A1:A2 para toda a população foi 1:1 (86,77; 52,7%:47,3%). Conclui-se que houve grande diversidade genética de *P. infestans*, que os transgenes que conferem a resistência funcionaram bem em plantas jovens, no início do ciclo de cultivo, e não foi observada especificidade hospedeiro-patógeno.

Se sembraron diez tubérculos de cada clon en surcos individuales en junio 2003, bajo régimen hídrico de temporal, siguiendo las prácticas culturales propias de la zona, excepto por la ausencia total de fungicidas, para permitir la infección natural por tizón. Se tomaron lecturas semanales de infección foliar durante ocho semanas en julio y agosto, de acuerdo a la escala de Henfling (1987), además de muestras de follaje con lesiones individuales causadas por *Phytophthora infestans*, para su posterior aislamiento y caracterización. Ésta consistió en la identificación del tipo de

compatibilidad (A1, A2), perfil aloenzimático para glucosa-fosfato-isomerasa (GPI, EC 5.3.1.9) y peptidasa (PEP, EC 3.4.3.1), así como la resistencia al fungicida metalaxil, con cuatro aislamientos por hospedante/dosis (0, 5 y 100ppm), siguiendo procedimientos descritos previamente (Goodwin *et al.*, 1995a; Shattock, 1998; Grünwald *et al.*, 2001).

Resultados y Discusión

Infección y desarrollo de la epidemia

Considerando que las condiciones óptimas para el esta-

blecimiento y desarrollo de la epidemia incluyen temperaturas entre 10° y 20°C, además de un mínimo de 10h diarias con humedades relativas >90% (Fry *et al.*, 1983), el período crítico de exposición del follaje a la infección natural y a las lecturas del daño se ubicó entre los días julianos 180 y 240, es decir, julio y agosto (Figura 1). Esto indujo la muerte de la variedad sin transformar (H6) y del clon que no adquirió el gen de resistencia (H4) en la tercera semana de agosto (Figura 2, Tabla II). El resto de los clones presentó un retraso de 2-3 semanas para iniciar la epidemia.

Los testigos susceptibles H6 y H4 fueron seguidos en infección por los clones H1 y H5, con mayor infección que el resto, e igualados por el H2, pues terminaron con poco más del 80% de su follaje dañado, mientras que H7, híbrido somático no transformado, mostró mayor resistencia al terminar con 30% de infección foliar (Figura 2). Se debe aclarar que una cosa es la severidad de la infección (cantidad follaje enfermo), y otra es la cantidad de genotipos del patógeno encontrados en dicha infección. Las dos situaciones no se relacionan, pues por un lado puede haber infección

severa por un solo genotipo, y por el otro, varias lesiones simples causadas por diferentes cepas.

Genotipos de *Phytophthora infestans*

Se identificaron 21 genotipos multilocus de *P. infestans* (Tabla I), todos previamente reportados (Grünwald *et al.*, 2001). De acuerdo al perfil de las variables utilizadas (grupo de compatibilidad y perfil aloenzimático de GPI y PEP), los tres genotipos más frecuentes no tuvieron equivalencia con las cepas de la clasificación norteamericana (Grupo US, Tabla I, columna de la derecha). Estos genotipos corresponden a nuestro número 1, A1; 100/100; 100/100, en un 18% de la población; al número 6, A1; 86/100; 100/100, con 13.5% de la población; y al número 13, A2; 100/100; 100/100, en 14% de la población. En el presente estudio tampoco fue identificado el genotipo más agresivo norteamericano, el

US 8, que corresponde al A2; 100/111/122; 100/100 (Godwin *et al.*, 1995a), aunque sí se encontraron otros (US 1, US 6, y US 7), pero en muy baja proporción (Tabla I). Grünwald *et al.* (2001) reportaron 56 genotipos de *P. infestans* en tres ambientes del valle de Toluca. La no detección de muchos de ellos en el presente estudio no im-

plica su ausencia en el ambiente, siendo lo más probable que los clones fueran resistentes a ellos o simplemente no se infectaron con ellos.

Resistencia a metalaxil

Esta variable se obtiene midiendo el radio de crecimiento *in vitro* del microorganismo en presencia del producto, en relación al del testigo, que crece en un medio sin metalaxil (crecimiento del 100%). Un aislamiento es susceptible cuando crece menos del 30%, es moderadamente resistente si crece del 30 al 60%, y resistente si su crecimiento supera al 60% del testigo. Considerando las dos dosis utilizadas (5 y 100ppm),

los aislamientos obtenidos de las transgénicas (H1, H2, H3, y H5; Figura 3), así como el testigo sin transformación (H6), se ubicaron entre los susceptibles. De igual manera, los genotipos de *P. infestans* obtenidos del hospedante que no adquirió la transgenia (H4), así como de los híbridos somáticos (H7, H8, y H9) fueron sensibles al fungicida, aunque con mayor crecimiento que el primer grupo mencionado (Figura 3).

Secuencia de aparición

Para el seguimiento de la incidencia cronológica se identificó a los genotipos en Tabla II de acuerdo a su número correspondiente en la Tabla I. La variedad Katahdin sin transformar (H6) fue la primera en infectarse. A las seis semanas postsiembra, en el primer muestreo, se obtuvieron cinco genotipos diferentes de *P. infestans* (genotipos números 4, 8, 10, 12 y 18, Tabla II). Una semana después, en este mismo hospedante, se repitió el genotipo 10 y se identificaron cuatro nuevas cepas diferentes a las anteriores (genotipos

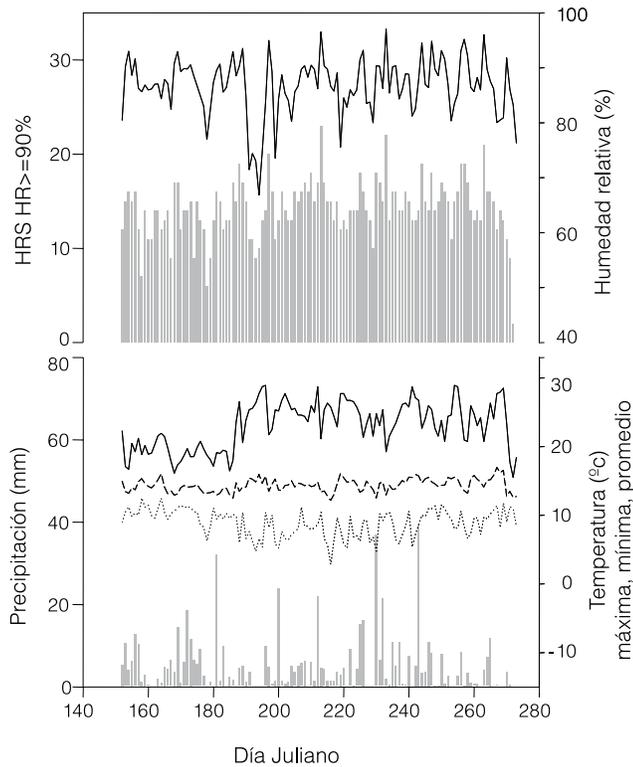


Figura 1. Datos meteorológicos en el lote del ensayo. A, líneas: acumulación de humedad relativa, barras: número de horas/día con humedad relativa superior al 90%; b, líneas: temperaturas máxima, media y mínima; barras: precipitación pluvial/día (mm).

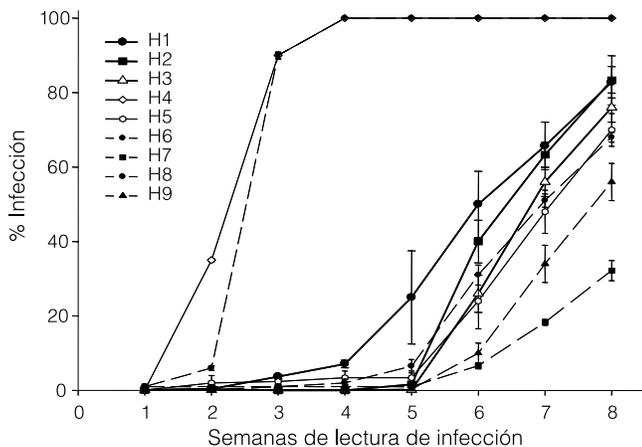


Figura 2. Curvas de progreso de la enfermedad. H4, clon de Katahdin que no adquirió la transgenia; H6, Variedad Katahdin sin transformar. Ver identidad del resto de los clones en Materiales y Métodos.

TABLA I
GENOTIPOS DE *P. infestans* AISLADOS DE LOS CLONES

Genotipo	GC	GPI	PEP	Freq N°	FR/EQ
1	A1	100/100	100/100	31	18%
2	A1	100/100	92/100	2	US 6
3	A1	100/111	100/100	1	US 7
4	A1	100/122	100/100	13	
5	A1	122/122	100/100	1	
6	A1	86/100	100/100	23	13.50%
7	A1	86/100	96/100	2	
8	A1	86/100	92/100	2	US 1
9	A1	86/122	100/100	3	
10	A1	86/122	92/100	5	
11	A1	86/122	96/100	2	
12	A1	86/86	100/100	1	
13	A2	100/100	100/100	24	14%
14	A2	100/100	96/100	8	
15	A2	100/100	92/100	1	US 6
16	A2	100/122	100/100	12	
17	A2	122/122	100/100	7	
18	A2	86/100	100/100	16	
19	A2	86/100	96/100	4	
20	A2	86/100	92/100	1	US 1
21	A2	86/122	100/100	4	

GC: grupo de compatibilidad, GPI: glucosa-fosfato-isomerasa, PEP: peptidasa, FREQ N°: número de aislamientos de cada genotipo, FR/EQ: frecuencia de los más abundantes en %, y equivalentes a la serie US.

1, 6, 13 y 21). En esta misma fecha se obtuvieron los primeros aislamientos del clon H4, que no adquirió la transgenia (genotipos 1, 4, 13 y 18; Tabla II). La fecha del tercer muestreo de H6 correspondió al segundo de H4 y al primero de H1 y H5, con repetición de la incidencia de los genotipos ya presentes en H4 y H6, y dos adicionales en H6 (genotipos 14 y 19).

Posteriormente no fue posible tomar más muestras a estos dos clones, porque murieron por el ataque del tizón. En este tercer muestreo (del 11/08) por primera vez se obtuvieron aislamientos del patógeno sobre los clones resis-

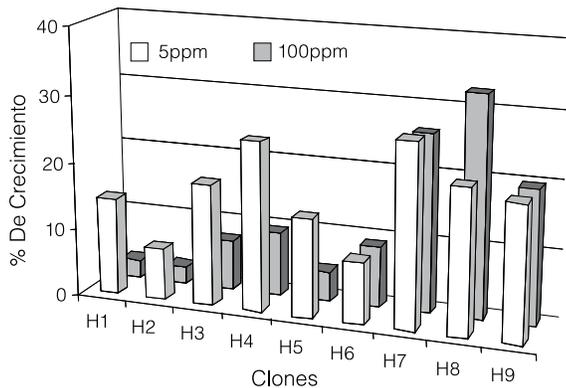


Figura 3. Promedio de crecimiento radial *in vitro* de aislamientos de *P. infestans* en presencia de metalaxil como porcentaje del testigo sin el fungicida.

ambiente sobre hospedantes susceptibles. Varios de los genotipos del patógeno fueron identificados solamente en un aislamiento en todo el ciclo (3, 5, 15, y 20; Tabla I; Tabla III). La frecuencia de genotipos de *P. infestans* y la

dos testigos susceptibles murieron prematuramente, como era lo esperado, por lo que solo se les tomaron muestras en las primeras tres de las ocho semanas programadas. No obstante, en tres muestreos se tuvieron 6 y 13 muestras para H4 y H6 (susceptibles), respectivamente, contra 20 y 29 en H2 y H1 (resistentes; Tabla III), en cuatro y seis muestreos, respectivamente (Tabla II).

Discusión

Se considera a *Solanum bulbocastanum* como una fuente importante de resistencia genética contra *Phyto-*

tradicional. Esta dificultad se supera mediante hibridación somática *in vitro*, y los caracteres indeseables se eliminan mediante retrocruzamiento (Helgeson *et al.*, 1998). De ahí surgieron los clones H7, H8, y H9 del presente estudio. Otra forma de insertar genes deseables específicos en variedades comerciales es mediante ingeniería genética (Song *et al.*, 2003; Kuhl *et al.*, 2007).

Entre dichos genes deseables se cuenta con los de resistencia al tizón tardío, identificados en el cromosoma 8 de *S. bulbocastanum* (Naess *et al.*, 2000; van der Vossen *et al.*, 2005) y en el cromosoma 5 de *S. tuberosum* y *S. demissum* (Ballvora *et al.*, 2007). Los clones obtenidos de esta manera y que se incluyeron en el presente estudio (H1, H2, H3 y H5)

TABLA II
SECUENCIA DE APARICIÓN DE LOS GENOTIPOS DE *P. infestans* EN EL CICLO DE CULTIVO*

Clon\Fecha**	28/07	04/08	11/08	19/08	25/08	04/09	08/09	15/09
H1			4, 18	13, 18, 20	1, 3, 12, 13, 16	1, 13, 16, 17	1, 4, 6	13, 14, 16
H2					6, 7	1, 6, 17, 19	2, 4, 10, 13	1, 13, 17, 18, 19
H3					1, 16	9, 17, 18	4, 6, 7, 13, 16	1, 6, 14
H4		1, 4, 13, 18	10, 18					
H5			5, 16	1, 17, 21	4, 6	1, 4, 14, 16	1, 6, 13	1, 13
H6	4, 8, 10, 12, 18	1, 6, 10, 13, 21	13, 14, 19					
H7					1, 4, 17	1, 6, 18	4, 6, 10, 11, 14, 18	1, 6, 16, 19
H8				4, 6	8, 18	1, 6, 13, 18, 21	1, 2, 13, 14, 16, 21	1, 14, 15
H9						1, 13, 17, 18	1, 6, 21	1, 6, 9, 13

* Ver perfil de los genotipos a los que corresponde cada número en la Tabla I.

** 2003.

tentes H1 (genotipos 4 y 18 de *P. infestans*) y H5 (genotipos 5 y 16). En el caso particular de este último, las dos cepas que lo infectaron no se encontraron con anterioridad en los hospedantes susceptibles ni posteriormente en las mismas plantas de donde se aislaron. Los genotipos 4, 10, 13 y 18 repitieron infección en los tres únicos muestreos de los dos clones mencionados (H4 y H6), pero en ese periodo se identificaron 13 genotipos, incluyendo a los que infectaron a los clones H1 y H5, evidenciando su gran variabilidad en el

cantidad total de aislamientos obtenidos por clon no se corresponde inversamente a la resistencia, es decir, a mayor resistencia menos infección o menos aislamientos (Tabla III). Esto se debe a que los

phthora infestans; no obstante, esta característica no se puede aprovechar en la papa común (*S. tuberosum*) debido a las diferencias en ploidad entre ambas especies, que no permite cruzamientos

resultaron de la inserción de los genes de resistencia mencionados, de *S. bulbocastanum* en *S. tuberosum* cv. Katahdin. Estos materiales mostraron resistencia a *P. infestans* en el invernadero (Song *et al.*, 2003), pero en el presente ensayo este comportamiento se manifestó solamente en las primeras etapas de crecimiento.

En trabajos posteriores la resistencia fue demostrada nuevamente al insertar los mencionados cromosomas en otros clones (Kuhl *et al.*, 2007). En este caso las condiciones de exposición de las plantas

TABLA III
NÚMERO DE GENOTIPOS DE *P. infestans* Y CANTIDAD DE CADA UNO OBTENIDOS POR CLON

Clon\Genotipo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	Tot.
H1	7		1	3		1						1	5	1		3	1	5		1		29
H2	3	1		1		5	1			1			3				2	1	2			20
H3	2			1		1	1		2				1	1		3	1	2				15
H4	1			1						1			2					2				7
H5	5			3	1	3						4	1		2	1				1		21
H6	1			1		2		1		2			2	1	1		1	1	1			13
H7	4			2		4				1	2			1		2	1	3	1			21
H8	5	1		1		2		1					3	3	1	1		2			1	21
H9	4					3			1				3				1	1			2	15

al patógeno no fueron tan severas como las del valle de Toluca, y aunque no se especifica, seguramente tampoco se expusieron las plantas a la gran amplitud de genotipos del patógeno que se detectó en el presente ensayo.

En relación al patógeno, el genotipo I de *P. infestans* del estudio (US 6.4, variante de US 6) fue el más frecuente (31 aislamientos, 19% de la población total; Tabla I), pero no así en otro reporte en donde fue el tercero (9,3%; Grünwald *et al.*, 2001), o de incidencia marginal (Goodwin *et al.*, 1998; Lozoya-Saldaña *et al.*, 2003). El segundo genotipo más predominante del patógeno en Toluca fue el 13, con 24 aislamientos (14,7% de la población, equivalente al US 13 norteamericano). Este fue el más abundante en el reporte de Grünwald *et al.* (2001), con un 13% del total. Es posible que esta cepa se haya generado por recombinación sexual, y aunque está presente en los EEUU, pudiera ser de origen mexicano (Goodwin *et al.*, 1995b, 1998). Esta posibilidad toma fuerza por la alta frecuencia detectada tanto en el reporte de Grünwald *et al.* (2001) como en el presente trabajo, ambos describiendo cepas del valle de Toluca, México. Destaca también el genotipo 6 de *P. infestans*, por ser el tercero en frecuencia en nuestro estudio (23 aislamientos, 14%; Tabla I) y es el equivalente al US 1 norteamericano (Goodwin *et al.*, 1998). En el estudio ya mencionado de Grünwald *et al.* (2001) fue el quinto en abundancia, con una frecuencia del 8%, que sigue siendo alta si se considera que en dicho estudio se identificaron 56 genotipos en mas de 500 cepas del valle. La variante US 1 es de amplia distribución en el mundo y posiblemente la mas antigua en EEUU y Canadá, tal vez desde los 1840's, previo a la hambruna irlandesa (Goodwin *et al.*, 1998).

En función de las coincidencias en la frecuencia de

aparición de los genotipos del patógeno entre este estudio y el de Grünwald *et al.* (2001), resaltan varios aspectos: a) se comprueba la aceptación generalizada del origen de la gran variabilidad genética de *P. infestans* en el valle de Toluca, México; b) los clones transgénicos de papa demuestran su resistencia contra el patógeno en condiciones menos severas de la enfermedad que en Toluca y en las fases tempranas de crecimiento; c) en función de los reportes recientes sobre la caracterización de *P. infestans*, éste continuará presentándose en el valle en una gran amplitud genética cada verano; y d) las plantas transgénicas perderán la resistencia a medida que avancen en edad ante las cepas incidentes en Toluca, lo que sería improbable en otras regiones que presenten menor variabilidad del patógeno y condiciones ambientales diferentes a las de este valle. Así, en los EEUU los genotipos mas frecuentes del oomiceto han sido US 7, US 8 y US 17 (Goodwin *et al.*, 1995b), ninguno de los cuales se obtuvo en Toluca de los hospedantes transformados. Esto es, no se presentaron en el ambiente en el lugar y el tiempo del presente estudio, o lo más importante, pudieron estar ahí pero no atacaron a las plantas transgénicas.

Conclusiones

Se presentó una gran amplitud de variabilidad genética del patógeno, sensible al metalaxil, sin que se aprecie especificidad hospedero-patógeno, y los transgenes de la resistencia funcionaron bien en plantas jóvenes.

REFERENCIAS

Ballvora A, Jockey A, Viehover P, Ishihara H, Paal J, Meksem K, Bruggmann R, Schoof H, Weisshaar B, Gebhardt C (2007) Comparative sequence analysis of *Solanum* and *Arabidopsis* in a hot spot for pathogen resistance on potato chromosome V reveals a patchwork of conserved and rapidly evolving genome

segments. *BMC Genomics* 8: 112. doi:10.1186/1471-2164-8-112

Flores-Crespo R (1969) *Taxonomía, Distribución y Potencial de los Solanum Tuberosiferos Silvestres de México*. Folleto Misceláneo N° 20. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. SAG. México. 33 pp.

Fry WO, Apple AE, Bruhn JA (1983) Evaluation of potato blight forecasts modified to incorporate host resistance and fungicide weathering. *Phytopathology* 73: 1054-1059.

Gallegly ME, Galindo J (1958) Mating types and oospores of *Phytophthora infestans* in nature in Mexico. *Phytopathology* 48: 274-277.

Goodwin SB (1996) Origin and ecology of *Phytophthora infestans*. *Rev. Mex. Fitopatol.* 14: 143-147.

Goodwin SB, Schnider RE, Fry WE (1995a) Use of cellulose-acetate electrophoresis for rapid identification of allozyme genotypes of *Phytophthora infestans*. *Plant Dis.* 79: 1181-1185.

Goodwin SB, Sujkowski LS, Dyer AT, Fry BA, Fry WE (1995b) Direct detection of gene flow and probable sexual reproduction of *Phytophthora infestans* in northern North America. *Phytopathology* 85: 473-479.

Goodwin SB, Smart CD, Sandrock RW, Deahl KL, Punja ZK, Fry WE (1998) 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.

Graham KM, Niederhauser JS, Servin L (1959) Studies on fertility and late blight resistance in *Solanum bulbocastanum* Dun. in México. *Can. J. Bot.* 37: 41-49.

Grünwald NJ, Flier WG, Sturbaum AK, Garay-Serrano E, van den Bosch TBM, Smart CD, Matuszac JM, Lozoya-Saldaña H, Turkensteen LJ, Fry WE (2001) Population structure of *Phytophthora infestans* within the Toluca valley region of central México. *Phytopathology* 91: 882-890.

Hawkes JG (1994) Origins of cultivated potatoes and species relationship. En Bradshaw JE, GR Mackay (Eds.) *Potato Genetics*. CABI. Wallingford, UK. pp 3-42.

Helgeson JP, Pohlman JD, Austin S, Haberlach GT, Wielgus SM, Ronis D, Zambolim L, Tooley P, McGrath JM, James

RV, Stevenson WR (1998) Somatic hybrids between *Solanum bulbocastanum* and potato: a new source of resistance to late blight. *Theor. Appl. Genet.* 96: 738-742.

Henfling JW (1987) *Late Blight of Potato* *Phytophthora infestans*. Technical Information Bulletin N° 4. International Potato Center. Lima, Perú. 25 pp.

Kuhl JC, Zarka K, Coombs J, Kirk WW, Douches DS (2007) Late Blight Resistance of *RB* Transgenic Potato Lines. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 132: 751-882.

Lozoya-Saldaña H, Grünwald NJ, Brown CR, Garay-Serrano E, Sturbaum-Abud A, Belmar-Díaz C (2003) Population substructuring of *Phytophthora infestans* on American potato clones in the Toluca Valley, México. *Acta Hort.* 619: 183-188.

Naess SK, Bradeen JM, Wielgus SM, Haberlach GT, McGrath JM, Helgeson JP (2000). Resistance to late blight in *Solanum bulbocastanum* is mapped to chromosome 8. *Theor. Appl. Genet.* 101: 697-704.

Niederhauser JS, Mills WR (1953) Resistance of *Solanum* species to *Phytophthora infestans* in México. *Phytopathology* 43: 456-457.

Reddick D (1939) Whence came *Phytophthora infestans*? *Chron. Bot.* 4: 410-412.

Shattock RC (1998) Studies on the inheritance of resistance to metalaxyl in *Phytophthora infestans*. *Plant Pathol.* 37: 4-11.

Song J, Bradeen JM, Naess SK, Raasch JA, Wielgus SM, Haberlach GT, Liu J, Kuang H, Austin-Phillips S, Buell CR, Helgeson JP, Jiang J (2003) Gene *RB* cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 100: 9128-9133.

Spooner DM, van den Berg RG, Rodríguez A, Bamberg J, Hijmans RJ, Lara-Cabrera SI (2004). *Wild potatoes* (*Solanum section petota*; *Solanaceae*) of North and Central America. Systematic Botany Monographs. Vol. 68. ASPT. Ann Harbor, MI, EEUU. 209 pp.

van der Vossen EA, Gros J, Sikkema A, Muskens M, Wouters D, Wolters P, Pereira A, Allefs S (2005) The *Rpi-blb2* gene from *Solanum bulbocastanum* is an Mi-I gene homolog conferring broad-spectrum late blight resistance in potato. *Plant J.* 44: 208-222.