

COMPLEJIDAD FISIOLÓGICA DE *Phytophthora infestans* EN COSTA RICA^{1/}

Miguel Barquero, Arturo Brenes^{2/*}, Luis Gómez*

Palabras clave: Raza fisiológica, patotipos, estructura de la población, tizón tardío, *Phytophthora infestans*.

Keywords: Physiological races, pathotypes, population structure, late blight, *Phytophthora infestans*.

Recibido: 30/09/05

Aceptado: 13/03/06

RESUMEN

Utilizando los clones diferenciales de papa que contienen genes *R* (1-11) se evaluó la composición de las razas fisiológicas de *P. infestans* presentes en una muestra de 40 aislamientos colectados en 5 zonas geográficas de Costa Rica. La estructura de las razas, respecto a los factores de virulencia, fue determinada mediante la inoculación del patógeno en folíolos separados de cada uno de los clones diferenciales. Se encontró una alta variabilidad y complejidad en la población evaluada de *P. infestans*, y diferencias entre las zonas geográficas y la estructura de las razas. De los 40 aislamientos, 37 resultaron ser razas diferentes y solamente 3 de los patotipos comparten los mismos factores de virulencia. De acuerdo con los índices relativos de Shannon y Gleason, en Zarcero y Cartago es donde existe la complejidad (factores de virulencia) y variabilidad (diferentes patotipos) más altas de la población. Los factores de virulencia que se expresan en una frecuencia mayor en la población estudiada son el 3, el 7 y el 8, mientras que el factor que se expresa con una frecuencia menor es el 5.

ABSTRACT

Physiological race composition of *Phytophthora infestans* in Costa Rica. Composition of the physiological races of *P. infestans* present in a sample of 40 isolates from 5 geographical zones of Costa Rica was assessed, using indicator potato clones possessing *R* genes 1 to 11. Races were determined by their reaction on detached leaflets of differential potato clones. A high variability and complexity were found in the pathogen population. There were also differences among the geographic zones in regard to race structure. Thirty seven out of 40 isolates were different races and only 3 of the pathotypes shared the same virulence factors. Shannon and Gleason relative diversity indices showed that Zarcero and Cartago populations presented the highest complexity (virulence factors) and variability (different pathotypes). Virulence factors 3, 7 and 8 were found most frequently, whereas virulence factor 5 was rare.

1/ Este trabajo es parte de la tesis de M.Sc. del primer autor. Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales. Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica.

2/ Autor para correspondencia. Correo electrónico: jabrenes@cariari.ucr.ac.cr

* Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

INTRODUCCIÓN

El tizón tardío de la papa, causado por el oomicete fitopatógeno *Phytophthora infestans*, es la enfermedad más importante que afecta a este cultivo alrededor del mundo. En varias oportunidades, la enfermedad ha alcanzado proporciones de epifitía. La más conocida fue la ocurrida en Irlanda en 1845, que ocasionó una gran hambruna y provocó la muerte de cerca de un millón de personas. A pesar del avance en el conocimiento que se tiene de la enfermedad, hoy día el tizón tardío continúa siendo uno de los principales factores limitantes en la producción de papa alrededor del mundo. Según estimaciones del Centro Internacional de la Papa (CIP), esta enfermedad ha reducido la producción mundial en 15%; por otra parte, la pérdida económica estimada para los países en desarrollo representa unos US \$ 2,75 millones al año (CIP 1996).

El origen del patosistema *P. infestans* / *S. tuberosum* no es del todo claro (Abad y Abad 1997). Sin embargo, tradicionalmente se ha sugerido el Valle de Toluca en México como el centro de origen de *P. infestans* (Tooley *et al.* 1986), por encontrarse en este lugar las 2 formas de combinación sexual; denominadas arbitrariamente A_1 y A_2 . Goodwin (1997) señala que desde este lugar se inició la diseminación del hongo de tipo sexual A_1 en 1842, y posteriormente el tipo sexual A_2 en la década de 1980. Una de las cualidades más sobresalientes de *P. infestans* y que ha sido documentada en diferentes regiones del mundo, tanto en papa como en otras solanáceas es su gran variabilidad o complejidad patogénica (Derie y Inglis 2001). La existencia de razas en este patógeno es lo que ha dificultado hasta el momento la obtención de variedades comerciales de papa con resistencia duradera. Los principales mecanismos que justifican tal variabilidad en *P. infestans* son: la posibilidad de la reproducción sexual, la hibridación somática de hifas y la variación poblacional del hongo provocada por la presencia de genes *R* en la población de los cultivares comerciales (Tooley *et al.* 1986, Shaw 1991, Goodwin *et al.* 1995). Estas características, aunadas a la posibilidad de migración de patotipos

entre países y continentes, hacen posible que exista un gran dinamismo que favorece cambios en la composición genética de la población de *P. infestans* (Fry *et al.* 1993, Goodwin *et al.* 1998, Platt *et al.* 1999).

En Costa Rica son cultivadas alrededor de 3000 ha de papa con un rendimiento promedio de 23 t ha⁻¹ (Brenes *et al.* 2002, Jiménez *et al.* 1998). El 80% es cultivado con la variedad Floresta y el resto con las variedades Granola, Atzimba, Idiafrit, y Birris, así como otras de menor importancia (Amador 2003). Sin embargo, no existen estudios actuales que expliquen el impacto económico del hongo sobre la producción, no obstante se afirma, que las pérdidas alcanzarían el 100%, si las condiciones climáticas fueran favorables al desarrollo de la enfermedad y no se contara con recursos económicos para un adecuado programa de protección con fungicidas.

A inicios de los años 60, Garofalo (1962) hizo en Costa Rica el primer y hasta el momento único intento en determinar la estructura de las razas fisiológicas de *P. infestans*. Encontró una baja complejidad, 1 ó 2 factores de virulencia y la presencia de 8 de las 16 diferentes razas. En vista que no se tiene estudios recientes sobre la composición fisiológica de *P. infestans*, la presente investigación tuvo como objetivo determinar el cambio poblacional de *P. infestans* ocurrido en las últimas 4 décadas en Costa Rica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamientos

La obtención de los aislamientos de *Phytophthora infestans* se hizo a través de un muestreo al azar, colectando al menos 1 muestra en cada lote infectado, en 5 zonas diferentes de Costa Rica. Dos localidades donde tradicionalmente se cultiva papa en Costa Rica: Zarcero y la región Norte de Cartago; además, de 3 localidades no tradicionales para el cultivo de la papa: Fraijanes en Alajuela; Tres Ríos en Cartago; y San Joaquín de Flores en Heredia (en este lugar

previamente había sido sembrada la variedad Granola). Cada zona se consideró como una unidad agronómica independiente y en ellas se recolectó, en junio del 2000, foliolos infectados naturalmente. En total se colectó 40 aislamientos.

Los aislamientos fueron obtenidos de hojas con síntomas. Para generar un cultivo puro del hongo, se colocó una pequeña sección de la lesión (1 cm²), con abundante esporulación entre 2 rodajas de papa de la variedad Granola. Las rodajas fueron incubadas en una cámara húmeda a 18°C y en oscuridad. Después de 7 días se tomó una porción de micelio aéreo, el cual se colocó sobre medio Agar-centeno (Caten y Jinks 1968) modificado por Brenes (2000). Para mantener la virulencia del patógeno durante su almacenamiento en medio artificial, se hicieron subcultivos de este transfiriendo el micelio aéreo del tubérculo al medio de cultivo y viceversa.

Preparación del inóculo

La preparación del inóculo se llevó a cabo con esporangios recuperados de aislamientos puros del patógeno en medio de Agar-centeno con 2 semanas de cultivo. Posteriormente, se calculó la concentración de esporangios con un hemacitómetro estandarizando a 40000 esporangios ml⁻¹.

Prueba de virulencia

La virulencia específica de cada aislamiento fue determinada usando el método de foliolo separado en 11 clones diferenciales de papa, que poseen los genes de resistencia del R_1 al R_{11} y un clon sin genes mayores (r). Los clones *in vitro* fueron obtenidos del Centro Internacional de la Papa (CIP) y micropropagados en el Laboratorio de Biotecnología de Plantas del Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica, para su siembra en invernadero. Las plántulas se colocaron en pots plásticos de 12 cm de profundidad, que contenían una mezcla esterilizada de fibra de coco molida y suelo en proporción 2:1. La temperatura del invernadero fue de 15-22 °C y 12 horas de luz natural.

La prueba de foliolo separado se realizó usando foliolos jóvenes, completamente desarrollados, ubicados en la 5^a y 6^a hoja subterminal de plantas de 6 a 8 semanas de edad. Los foliolos fueron colocados en cajas plásticas transparentes de 20×20×6,5 cm (Figura 1a), en posición abaxial y sobre un papel filtro o papel toalla estéril colocado sobre un soporte metálico. En cada caja se agregó previamente 100 ml de agua estéril. Cada foliolo fue inoculado con una gota de 25 μl de suspensión de esporangios equivalente a 1000 esporangios, posteriormente fueron colocados

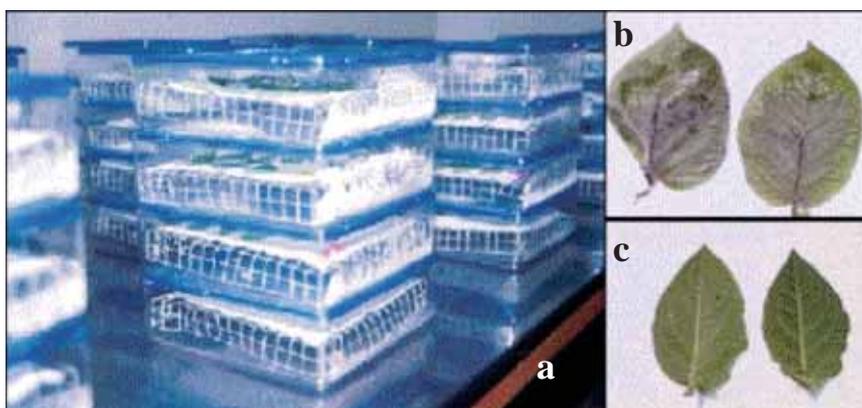


Fig. 1. a. Cajas conteniendo foliolos inoculados con *P. infestans*. b. Foliolos separados donde se observa una reacción compatible y c. otra no compatible

en una cámara graduada a $18\pm 1^\circ\text{C}$ y 16 h de iluminación. Para cada diferencial se utilizó 2 foliolos, donde cada foliolo representó una unidad experimental. La prueba se hizo por triplicado utilizando foliolos de plantas diferentes.

Los foliolos fueron evaluados 5 días después de la inoculación. Se determinó la presencia de una reacción compatible (crecimiento micelial y abundante esporulación) o incompatible (ausencia de síntomas visibles o presencia de puntos necróticos) como se puede observar en la figura 1b y 1c. El aislamiento se consideró virulento si al menos 4 de 6 foliolos presentaban una reacción compatible.

Análisis

La designación de las razas de *P. infestans* se realizó usando la nomenclatura propuesta por Black *et al.* (1953) y un clon diferencial como testigo sin genes mayores o genes *r* sugerido por Tooley *et al.* (1989). La diversidad en la población seleccionada

fue estimada a través de los índices de Shannon y de Gleason (Goodwin *et al.* 1995). El índice de Shannon calculado como: $H_S = \sum_j (p_j \ln p_j)$, $j = 1 \dots n_p$, donde p_j es la frecuencia de la j th raza en la población y n_p es el número de razas. El índice de Gleason calculado como: $H_G = (n_p - 1) / (\ln n_p)$, donde n_p es el número de razas y n_i es el número de aislamientos evaluados. Para comparar las localidades y reducir el efecto por la diferencia en el tamaño de las muestras, se determinó el índice relativo de los índices de diversidad anteriormente mencionados. El $H_{GR} = H_G / (n_i - 1)$ y el $H_{SR} = H_S / (\ln n_i)$.

RESULTADOS

La complejidad de los aislamientos de *P. infestans* analizados se observa en el cuadro 1. Es importante resaltar la presencia de razas simples y complejas. De los 40 aislamientos que fueron inoculados sobre los 11 clones diferenciales de papa, se encontró que 37 son patotipos diferentes y que los 3 restantes

Cuadro 1. Estructura de las razas identificadas en 40 aislamientos de *P. infestans* colectados durante el año del 2000 en 5 localidades de Costa Rica.

Localidad	Raza	Frecuencia (%)	Localidad	Raza	Frecuencia (%)	
Cartago	4.8	0,025	Zarcero	1.2.3.4.6.7.8.10	0,025	
	1.2.3.4.6.7.8.9.10.11	0,025		1.2.3.4.5.6.7.8.9.11	0,025	
	2.3.6.7.8.9.10.11	0,025		9.11	0,025	
	2.4.6.7.8	0,025		1.3.4.6.7.8.9.11	0,025	
	1.2.3.4.6.7.8	0,025		1.2.3.4.6.7.8.10.11	0,025	
	7.	0,025		3.7.8	0,025	
	1.2.3.4.6.7.8.9.10	0,075		4.6.8.9.	0,025	
	1.2.3.6.7.9	0,025		Frajijanes	2.3.4.6.7.8	0,025
	1.2.3.4.6.7.8	0,025			3.5.8.9	0,025
	4.6.8.	0,025			3.6.7.8.10.11	0,025
	2.3.4.6.7.8.9.10	0,025	Tres Ríos	2.3.4.6.7.8	0,025	
	3.4.5.6.7	0,025		3.4.7.8.10	0,025	
	1.3.4.6.7.8.9.10	0,025		3.7.8.9	0,075	
	1.	0,025		3.7.8.10	0,025	
	4.7.8	0,025		3.4.7.9.10	0,025	
Zarcero	2.3.4.6.7.8.11	0,025	S. Joaquín	2.4.6.7.8	0,025	
	1.2.3.4.6.7.8.10.11	0,025		1.2.3.7.9	0,025	
	1.2.3.4.5.6.7.8.9.10.11	0,025		8.	0,025	
	1.2.3.6.7.8.9.11	0,025		1.3.4.6.7.8.11	0,025	

presentan los mismos factores de virulencia (la raza: 1.2.3.4.6.7.8.9.10). En Zarcero se encontró la raza con la complejidad más alta, 11 factores de virulencia (la raza: 1.2.3.4.5.6.7.8.9.10.11). Además, en la población analizada no se logró determinar la presencia de aislamientos que correspondieran a una raza 0.

La frecuencia con que se expresó cada raza de la población analizada se presenta en el cuadro 2. Como se puede observar, la población evaluada fue altamente variable con respecto a las razas, no así para los factores de virulencia presentes en cada una de estas. El factor con mayor frecuencia es el 8 ($f=0,88$), seguido del 7 ($f=0,83$) y del 3 ($f=0,79$); mientras que el que presenta la frecuencia más baja es el factor 5 ($f=0,10$). Además, existen diferencias en la frecuencia de aparición de los factores de virulencia según la localidad. De las zonas paperas, Zarcero es el lugar donde cada factor de virulencia

se expresa con una frecuencia mayor, salvo los factores 4, 9 y 10 que son más frecuentes en la zona de Cartago. Por otra parte, en las localidades de San Joaquín, Fraijanes y Tres Ríos, donde tradicionalmente no se siembra papa, se muestra una baja frecuencia en la mayoría de los factores de virulencia, excepto en los factores 3, 5 y 10 que fueron los más frecuentes en estas localidades.

El número de factores de virulencia o complejidad que se expresa en cada aislamiento varío con la localidad. Los aislamientos de la localidad de Zarcero y la región de Cartago fueron destacados por presentar los valores más altos de factores de virulencia; en promedio se presentó 7,2 y 6,8 factores de virulencia por aislamiento, respectivamente. Por otra parte, los aislamientos de las localidades de San Joaquín y Tres Ríos presentaron los valores más bajos, 4,8 y 4,5 (Cuadro 3).

Cuadro 2. Frecuencia de los factores de virulencia de *P. infestans* en 5 zonas geográficas de Costa Rica, en el año 2000.

Zona	Frecuencia de cada factor										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Cartago	0,53	0,59	0,65	0,76	0,06	0,76	0,82	0,76	0,47	0,41	0,12
Zarcero	0,73	0,64	0,82	0,73	0,18	0,82	0,82	0,91	0,55	0,36	0,73
S. Joaquín	0,50	0,50	0,50	0,50	0	0,50	0,75	0,75	0	0	0,25
Fraijanes	0	0,50	1,0	0,50	0,25	0,75	0,75	1,0	0,25	0,50	0,25
Tres Ríos	0	0	1,0	0,50	0	0	1,0	0,75	0,50	0,75	0
Promedio	0,35	0,44	0,79	0,60	0,10	0,57	0,83	0,88	0,35	0,41	0,27

Cuadro 3. Número de factores de virulencia e índices de diversidad de razas en la población de *P. infestans*, en el año 2000.

Localidad	Número de aislamientos	H_G	H_{GR}	H_S	H_{SR}	Promedio de factores de virulencia / aislamiento
Cartago	17	4,94	0,88	2,64	0,93	6,4
Zarcero	11	4,17	0,96	2,40	1,00	7,2
Fraijanes	4	2,16	0,79	1,39	1,00	5,3
San Joaquín	4	2,16	0,79	1,39	1,00	4,8
Tres Ríos	4	2,16	0,79	1,39	1,00	4,5
Población total	40	10,0	0,94	3,61	0,98	5,7

H_G : índice de Gleason; H_{GR} : índice relativo de Gleason.

H_S : índice de Shannon; H_{SR} : índice relativo de Shannon.

En cuanto a los índices de diversidad, en el cuadro 3 se pueden apreciar los índices relativos de diversidad de Gleason y Shannon. Para las localidades de tradición papera (Cartago y Zarcero), la localidad que expresa una mayor cantidad de fenotipos diferentes y a la vez una mayor similitud en la frecuencia de los diferentes fenotipos es Zarcero. Por su parte, las localidades que no se caracterizan por su vocación papera (Fraijanes, San Joaquín y Tres Ríos), tienen un índice de diversidad igual entre ellos, pero menor al de Cartago y Zarcero, ya que los aislamientos en estas localidades son diferentes en fenotipo pero iguales en frecuencia.

DISCUSIÓN

Los resultados de esta investigación corresponden al segundo estudio realizado en el país para determinar la estructura de las razas fisiológicas de *P. infestans* existentes, e ilustra la diversidad y complejidad de la población de este patógeno en Costa Rica, en el año 2000. El primer estudio realizado para determinar la estructura de las razas fisiológicas fue desarrollado por Garófalo a inicios de la década de los 60 en la región papera de Cartago. A través de los diferenciales derivados de la especie *Solanum demissum* propuestos por Black *et al.* (1953), Garófalo (1962) logró determinar la presencia de 8 diferentes patotipos de *P. infestans*, los cuales presentaron un máximo de 2 factores de virulencia por aislamiento; donde los factores más frecuentes fueron el 1 y el 4. Al comparar el trabajo de 1962 con el presente estudio, es notorio el incremento en la diversidad y complejidad de la población del hongo luego de 38 años, aunque se debe tomar en cuenta el cambio en las variedades cultivadas actualmente y el número de estas, además de las localidades y las diferencias metodológicas utilizadas para determinar la composición de la población evaluada. En el 2000, la población de *P. infestans* en la zona de Cartago presentó en promedio 6,4 factores de virulencia por aislamiento y la frecuencia de los factores de

virulencia cambió de 1 y 4 a 7 y 8; tal y como se observa en el cuadro 2.

En otros países, se considera a las migraciones como la fuente principal de incremento en los factores de virulencia y diversidad de razas de *P. infestans*. En países como Canadá, Estados Unidos y Reino Unido se ha detectado cambios drásticos en la estructura genética y fisiológica de la población de este patógeno, reportándose el surgimiento de nuevos linajes y una mayor complejidad (Peters *et al.* 1998). Sin embargo, la hipótesis de que las migraciones incrementan la estructura de las razas fisiológicas, es motivo de cuestionamientos. Swiezynski *et al.* (2000), analizaron aislamientos de *P. infestans* que fueron recolectados y almacenados antes de las migraciones descritas por Fry *et al.* (1991), Goodwin (1997) y Forbes (1997) hacia el norte de América y Europa; así como de aislamientos recobrados luego de ocurridas las migraciones del patógeno descritas anteriormente. Los resultados confirmaron la presencia de 11 factores de virulencia en ambas poblaciones, sugiriendo que el número de factores de virulencia o el aumento en la complejidad no es causado por la introducción de nuevos patotipos. Esto podría ser causado, más bien, por la presencia de recombinación sexual introducida por la interacción de los tipos de apareamiento A1 y A2 del patógeno, como lo discuten Grünwald y Flier (2005). Es importante resaltar que hasta el momento existen 11 genes *R* identificados claramente, y que estos son solamente una muestra de los genes *R* totales presentes en las especies cultivadas y silvestres de papa, y que posiblemente el número es aún mayor (Swiezynski *et al.* 2000, Dowley *et al.* 2000); lo cual implicaría también una mayor variabilidad del patógeno con respecto al número de factores de virulencia que se podría encontrar en las razas.

Por otra parte, al analizar la estructura patogénica de la población de *P. infestans* en los aislamientos recolectados, se aprecia que existen diferencias en la frecuencia de los factores de virulencia entre las localidades. Los factores más frecuentes son 7 y 8; mientras que los menos frecuentes son 5, 11 y 9. Este comportamiento

es diferente al encontrado por Swiezynski *et al.* (2000), donde luego de analizar una recopilación de la información a nivel mundial, se encontró que los factores de virulencia que se expresan con mayor frecuencia son 4, 1 y 3, respectivamente. Los resultados sí son similares en cuanto a la baja frecuencia de los factores 5 y 9. Sin embargo, Derie e Inglis (2001) encontraron una frecuencia de 95% en el factor de virulencia 5 en Washington, EE.UU. De acuerdo con los trabajos realizados por Stewart (1990), Zarzyck (1996) y Sujkowski (1992) citados por Swiezynski (2000), los factores 5 y 9 presentan por lo general una baja frecuencia, debido a que existe una irregularidad en la expresión de la avirulencia en el diferencial, indicando además que los cambios en la expresión de la avirulencia esta altamente correlacionada con cambios de temperatura.

Es posible que la gran variabilidad de razas fisiológicas de *P. infestans* determinada en Costa Rica, como lo demuestra el índice Gleason (Cuadro 3) y el cambio en la frecuencia de los factores de virulencia, este relacionada con las fuentes de genes *R* existentes en las diversas variedades de papa que se han cultivado y se cultivan actualmente, producto del mejoramiento genético basado en genes mayores. El mismo hecho de no encontrar con aislamientos sin factores de virulencia, como lo sería una raza 0, en la muestra estudiada, es un indicativo de que este factor es muy poco frecuente en la población de *P. infestans*. En países como Argentina, Perú, México, Venezuela, Canadá e Italia la raza 0 es muy frecuente (Cristinzio *et al.* 1998, Aponte y Jiménez 1990).

Es importante destacar además, que la expresión de los factores de virulencia o avirulencia son influenciados por varias condiciones, 2 de las cuales son de carácter genético inherentes tanto al patógeno como a la planta: la genética determinada por la virulencia del patógeno (Al-Kherb *et al.* 1995) y la genética determinada por la resistencia específica del diferencial (Malcolmson y Black, 1966). Una tercera condición es más inherente a las condiciones bajo las cuales se desarrolló la evaluación.

En este punto, como menciona Swiezynski *et al.* (2000), es importante señalar la posición del foliolo en la planta, la temperatura ambiental en la que se desarrolla la prueba, la concentración del inóculo, la fertilización aplicada a las plantas y el pretratamiento del patógeno para obtener el inóculo. Todas estas causas pueden ser motivo de la poca concordancia que existe entre laboratorios y además que se presenten diferencias en la expresión de determinados factores de virulencia en los aislamientos evaluados.

Además, los factores ligados a condiciones ambientales como la cantidad de lluvia, la humedad relativa, el ámbito de temperatura, los tipos de hospederos y la sensibilidad a fungicidas entre otros, pueden estar también influyendo en las diferencias encontradas en las localidades evaluadas en la expresión de determinados factores de virulencia. Al observar el índice relativo de diversidad de la población, encontrado en el presente trabajo, se puede concluir que en Costa Rica existen diferencias en la estructura de las razas de acuerdo a diferencias en las zonas geográficas; siendo Zarcero donde existe la mayor variedad de factores de virulencia y el mayor número de razas.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue financiado por la Comisión Europea, a través del proyecto: INCO-DC: "Exploitation of the genetic biodiversity of wild relatives for breeding potatoes with sustainable resistance to late blight (*Phytophthora infestans*)"

LITERATURA CITADA

- ABAD G., ABAD J. 1997. Another look at the origin of late blight of potatoes, tomatoes, and pear melon in the Andes of South America. *Plant Disease* 81 (6): 682-688.
- AL-KHERB S.M., FININSA C., SHATTOCK R.C., SHAW D.S. 1995. The inheritance of virulence of *Phytophthora infestans* to potato. *Plant Pathology* 44: 552-562.

- AMADOR R. 2003. Producción y comercialización de semilla certificada de papa de variedades para consumo fresco y para la industria en la zona alta de Cartago. Taller: Colaboración internacional para el mejoramiento del cultivo de la papa. San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica. 99 p.
- ANDRIVON D. 1994. Race of *Phytophthora infestans* in France, 1991-1993. *Potato Research* 37: 279-286.
- APONTE A., JIMENEZ B. 1990. Determinación de razas fisiológicas de *Phytophthora infestans* en papa en el estado de Lara, Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 3(2):29-39.
- BLACK W., MASTENBROEK C., MILLS W.R., PATERSON L.C. 1953. A proposal for an international nomenclature of races of *Phytophthora infestans* and genes controlling immunity in *Solanum demissum* derivatives. *Euphytica* 2:173-179.
- BRENES A., RIVERA C., VÁSQUEZ V. 2002. Principales enfermedades y plagas de la papa en Costa Rica. San José, Costa Rica. EUNED, 120 p.
- BRENES A. 2000. Introgression of late blight resistance from *Solanum* wild species into *S. tuberosum* breeding lines. Ph.D. Thesis Tübingen University. 199 p.
- CATEN C.E., JINKS J.L. 1968. Spontaneous variability of single isolates of *Phytophthora infestans*. I. Cultural variation. *Canadian Journal of Botany* 46: 329-348.
- CIP. 1996. Informe anual 1996. Lima, Perú. CIP. 16 p.
- CRISTINZIO G., TESTA A., PUGLIANO P. 1998. Razze di *Phytophthora infestans* presenti in Italia. *Informatore fitopatologico* 9:49-51.
- DERIE M. L., INGLIS D. A. 2001. Persistence of complex virulences in populations of *Phytophthora infestans* in Western Washington. *Phytopathology* 91:606-612.
- DOWLEY L.J., SULLIVAN E.O., GRIFFIN D., HARMEY M. 2000. Genetic analysis of Irish populations of *Phytophthora infestans*. www.teagas.ie/research/report/crops/4148/eopr-4148.htm (recuperado el 06/08/01)
- GRÜNWARD N., FLIER W. 2005. The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43: 171-90.
- FORBES G.A., JARVIS M.C. 1993. Host resistance for management of potato late blight. Taller Prácipar-Rionegro, Prácipar, Rionegro, Colombia. 16 p.
- FORBES G.A., ESCOBAR X.C., AYALA C.C., REVELO J., ORDONES M.E., FRY B.A., DOUCETT K., FRY W.E. 1997. Population genetic structure of *Phytophthora infestans* in Ecuador. *Phytopathology* 87:375-380.
- FRY W.E., DRENTH A., SPIELMAN B.C., MANTEL L., DAVIDSE L.C., GOODWIN S.B. 1991. Population genetic structure of *Phytophthora infestans* in the Netherlands. *Phytopathology* 81:1330-1336.
- FRY W.E., GOODWIN S.B., DYER A.T., MATUSZAK J.M., DRENTH A., TOOLEY P.W., SUJKOWSKI L.S., KOH Y.J., COHEN B.A., SPIELMAN L.J., DEAHL K.L., INGLIS D.A. 1993. Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: chronology, pathways, and implications. *Plant Disease* 77:653-661.
- GAROFALO A.O. 1962. Identificación de razas fisiológicas de *Phytophthora infestans* en Costa Rica. Tesis de Licenciatura. Facultad de Agronomía, Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica. 36 p.
- GOODWIN S.B., SMART C.D., SANDROCK R.W., DEALH K.L., PUNJA Z.K., FRY W.E. 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.
- GOODWIN S.B. 1997. The population genetics of *Phytophthora*. *Phytopathology* 87(4): 462-473.
- GOODWIN S.B., SUJKOWSKI L.S., FRY W.E. 1995. Rapid evolution of pathogenicity within clonal lineages of the potato late blight disease fungus. *Phytopathology* 85: 669-676.
- JIMENEZ G.K., QUIROS A.J., RETANA A.S., VARGAS R.R., VILLALOBOS G.R., VILLALOBOS U.D. 1998. Análisis de los sistemas de comercialización de la papa en las zonas de mayor producción en Costa Rica. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Económicas, Escuela de Administración de Negocios, Universidad de Costa Rica. p. 27-52.
- LOPEZ J., MARQUEZ M.E., JARAMILLO S., ZAPATA J.L., MAZO J., PATIÑO L. 1997. Determinación de razas fisiológicas y tipo de apareamiento en aislamientos de *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary. *Revista Latinoamericana de la Papa* 9-10(1): 156-170.
- MALCOLMSON J.F., BLACK W. 1966. New R genes in *Solanum demissum* Lindl. and their complementary races of *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. *Euphytica* 15: 199-203.
- PAEZ O., BARQUERO M., BRENES A., VALVERDE R. 2001. Diversidad genética de *Phytophthora infestans*

- en el cultivo de la papa en Costa Rica. Congreso Iberoamericano Vitoria-gasteiz, 3-6 julio. España.
- PETERS R.D., PLANTT H.W., HALL R. 1998. Changes in race structure of canadian populations of *Phytophthora infestans* based on specific virulence to selected potato clones. *Potato Research* 41: 335-370.
- PLATT H.W., PETERS R.D., MEDINA M., ARSENAULT W. 1999. Impact of seed potatoes with *Phytophthora infestans* (US-1 or US-8 genotypes) on crop growth and disease risk. *Amer. J. of Potato Res.* 75: 767-73.
- SHAW D. S. 1991. Genetics. *Advances in Plant Pathology* 7: 131-168.
- SWIEZYNSKI K. M., DOMANSKI L., ZARZYCKA H., ZIMNOCH-GUZOWSKA E. 2000. The reaction of potato differentials to *Phytophthora infestans* isolates collected in nature. *Plant Breeding* 119: 119-126.
- TOOLLEY P.W., SWEIGARD J.A., FRY W.E. 1986. Fitness and virulence of *Phytophthora infestans* isolates from sexual and asexual populations. *Phytopathology* 76: 1209-1212.
- TOOLLEY P.W., THERRIENC D., RITCHIE D.L. 1989. Mating type, race composition, nuclear DNA content and isozyme analysis of peruvian isolates of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 79: 478-481.

