

## **LAS POBLACIONES DE *Phytophthora infestans* PRESENTES EN PAPA EN EL ALTIPLANO CUNDIBOYACENSE EN 1996 SON MONOMORFICAS PARA LA ENZIMA GLUCOSA-6-FOSFATO ISOMERASA\***

### **Populations of *Phytophthora infestans* present on potato in the Cundinamarca and Boyacá plateau in 1996 are monomorphic for glucose-6-phosphate isomerase**

Elsa Janeth Gualtero Cuéllar<sup>1</sup> y Celsa García Domínguez<sup>2</sup>

#### **RESUMEN**

La gota de la papa, causada por *Phytophthora infestans*, es responsable, en gran medida, de la disminución de la producción de este cultivo en el altiplano Cundiboyacense. Hasta el momento, el control de la gota se ha basado, principalmente, en la aplicación de fungicidas. La observación de una mayor variabilidad genética en las poblaciones del patógeno en varios caracteres, incluyendo la sensibilidad a fungicidas, ha mostrado la necesidad de conocer la estructura genética de las poblaciones locales; por esto se realizó una caracterización aloenzimática de las poblaciones de *P. infestans* en Cundinamarca y Boyacá a través de glucosa-6-fosfato isomerasa (GPI) lo cual permitió determinar su naturaleza clonal.

En efecto todos los aislamientos locales evaluados presentaron genotipo 100/100 para GPI, es decir, fueron homocigotos monomórficos. El aislamiento Ro presentó un genotipo 86/100 que, al ser comparado

con aislamientos de Estados Unidos, corresponde al linaje US-1. El aislamiento MT2 presentó un genotipo 84/100. Estos aislamientos corresponden a poblaciones heterocigotas que pueden ser el resultado de la reproducción sexual. El aislamiento HIN presentó un genotipo 100/100 coincidiendo con los aislamientos locales; este aislamiento es del tipo de apareamiento A1, y por comparación con aislamientos de Estados Unidos, corresponde al linaje US-6, este linaje representa una de las primeras migraciones de México a Estados Unidos, Europa y luego al resto del mundo anteriores a la migración del tipo A2.

Los resultados de los análisis indican que las poblaciones locales no presentan diversidad, siendo por tanto de origen clonal; estos resultados están de acuerdo con la evaluación de las mismas poblaciones por sensibilidad a metalaxil y tipo de apareamiento (González, 1997).

Las poblaciones de *P. infestans* de las localidades muestreadas en el altiplano Cundiboyacense son clonales y están constituidas por un sólo genotipo. Esta homogeneidad, en lo que se refiere a GPI en la población, permite concluir que en esta zona predomina la reproducción asexual, a través de la cual la variación genética es mínima o no se presenta. Resultados alternativos como la aparición de genotipos nuevos apoyarían la existencia de migraciones de otras pobla-

---

\* Recibido Marzo de 1998

1. Licenciada en biología y química, Universidad del Tolima, y maestría en Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia.

2. Ing. Agr., Ph. D., Profesora asociada, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia.

ciones o la recombinación sexual explicada por la presencia de los tipos de apareamiento A1 y A2.

**Palabras claves:** gota, aloenzimas, isoenzimas.

## SUMMARY

Potato late blight, a disease caused by the Oomycete *Phytophthora infestans*, is responsible in great proportion for severe decrements in potato production in the Cundinamarca and Boyacá plateaus. Until now, late blight control has been done mainly with fungicides. The widened genetic variability in populations of this organism for a number of traits, including sensitivity to commercially available fungicides, observed in a world-wide perspective, has shown the need to research the genetic structure of local populations. This study was launched to characterize the populations of *P. infestans* in Cundinamarca and Boyacá through the polymorphism of glucose-6-phosphate isomerase (GPI). The results pointed at a clonal nature of these populations.

All the local isolates were homozygous monomorphic for GPI, with genotype 100/100. Isolate Ro showed genotype 86/100 that corresponds to lineage US-1. Isolate MT2 showed genotype 84/100. These isolates correspond to heterozygous populations that may have resulted from sexual reproduction. Isolate HIN had genotype 100/100, coinciding with local isolates. This isolate belongs to mating type A1 and corresponds to lineage US-6. This lineage represents one of the earliest migrations from Mexico to the United States, Europe and the rest of the world. Prior to the migrations of mating type A2.

Results indicate that local populations are not too diverse, and suggest a clonal origin. These results agree with the evaluation of this same population as regards sensitivity to metalaxil and mating type (Gonzalez, 1997). Thus, it appears as if local populations of *P. infestans* in Cundinamarca and Boyaca on the whole were clonal, and made up of one genotype. From this

homogeneity in the GPI alleles, one may conclude the prevalence of asexual reproduction, which restricts greatly genetic variation. Different results such as the appearance of novel genotypes would have supported the alternative view of migrations from other populations or sexual recombination involving mating types A1 and A2.

**Key words:** potato late blight, allozymes, isozymes.

## INTRODUCCION

*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary (Protista: Oomycota) es el agente causal del tizón tardío o gota de la papa (*Solanum tuberosum* L.). Este patógeno también ataca otras solanáceas, entre ellas el tomate (*Lycopersicon* spp.). Las poblaciones de este patógeno tienen una amplia diversidad en términos de virulencia, la cual se expresa en abundancia de razas o patotipos (Smith et al., 1992).

Desde los inicios de su diseminación desde México al resto del mundo hacia 1840, la variabilidad de *P. infestans* ha estado limitada por su condición heterotática y por la presencia de un solo tipo de apareamiento (A1). Bajo estas condiciones, *P. infestans* solo puede reproducirse asexualmente. Cuando concurren los dos tipos de apareamiento (A1 y A2), como sucede en la mesa central de México, cabe esperar la ocurrencia de reproducción sexual con la secuela de una mayor variabilidad. A partir de 1980 se han encontrado los dos tipos de apareamiento de *P. infestans* en todos los continentes, excepto Australia y la Antártida, aparentemente como consecuencia de migraciones desde México; simultáneamente se ha observado una proliferación en número de genotipos en las poblaciones de *P. infestans* tanto en Europa como en Estados Unidos (Goodwin et al., 1994).

Los linajes migrantes de *P. infestans* detectados en los años 1980 en Europa, Asia, Africa y Norteamérica se incrementaron rápidamente desplazando a los linajes antiguos (Dagget et al., 1993). Análisis de cam-

bios genéticos en poblaciones de *P. infestans* en el tiempo realizados en Europa, también indican que las nuevas poblaciones desplazaron rápidamente a las poblaciones antiguas (Dagget et al., 1993). En resumen, el establecimiento exitoso de las nuevas poblaciones migratorias de *P. infestans* a través de Norteamérica, expresado en su amplia distribución, en la ocurrencia de resistencia a metalaxil, y en la diversidad de mecanismos de dispersión del patógeno, nos alertan a estar atentos a cambios en la distribución de genotipos por virulencia o por resistencia al fungicida (Fry et al., 1993).

Recientemente se ha investigado la afinidad genética entre poblaciones de *P. infestans* de 10 países en cinco continentes con base en más de 250 aislamientos (Fry et al., 1993). Como no hay evidencia definitiva de la naturaleza de las migraciones que pudieron haber ocurrido entre 1840 y 1970, cabe suponer que las poblaciones que participaron en la migración de los años 70 se diferenciaron hace poco tiempo de la población original en el centro de México. Los resultados demostraron el predominio de un genotipo con una frecuencia superior al 50% en todas las regiones no afectadas por la migración de los 1970s. Este genotipo junto con otros muy íntimamente relacionados, que difieren solamente por una de las 14 bandas del patrón dactilográfico de ADN o por la pérdida de una aloenzima de los cuatro alelos, constituyen el linaje clonal que dominó las poblaciones extra mexicanas.

Las migraciones y el fenómeno de sustitución de poblaciones de *P. infestans* pueden tener repercusiones sobre las prácticas de manejo de la gota. De una parte, las poblaciones migrantes de *P. infestans* frecuentemente tienen sensibilidad disminuida al fungicida metalaxil y, de la otra, sus procesos de reproducción vegetativa (asexual) responden de manera diferente a los parámetros de temperatura y humedad relativa establecidos en los modelos de predicción que fueron desarrollados para poblaciones antiguas del patógeno (Fry et al., 1993).

Por lo tanto, para diseñar sistemas efectivos de manejo de la gota de la papa, es necesario caracterizar las poblaciones de *P. infestans* presentes en una región o país. Con este trabajo se buscó aumentar la información sobre la composición y variabilidad genética de las poblaciones en el altiplano cundiboyacense, ya que sólo se conocían las de Antioquia (Castañeda & Morales, 1996; Mazo & Patiño, 1995; Ramírez, 1996).

Cuando los individuos que componen una población expresan dos o más fenotipos para un carácter determinado y cuando la frecuencia relativa del fenotipo más abundante no excede al 99%, se dice que la población es polimórfica para ese carácter. En caso contrario, se afirma que la población es monomórfica para ese carácter o que el carácter es monomórfico en esa población (Whittaker, 1975).

El polimorfismo de aloenzimas se ha usado para explorar y comparar la diversidad de poblaciones de *P. infestans* (Tooley et al., 1985). Como la expresión de los alelos codificadores de aloenzimas generalmente no es afectada por el ambiente, estos marcadores sirven para estimar confiablemente la variación genotípica de la población. En efecto, la amplitud de la gama de genotipos de aloenzimas presentes en una población se puede usar como una medida de la variabilidad de alelos para aloenzimas y de la ocurrencia de recombinaciones genéticas, presumiblemente debidas a la reproducción sexual (Fry et al., 1991). Además, en condiciones de diploidía, que han sido corroboradas para *P. infestans* (Tooley et al., 1985), el análisis de aloenzimas permite distinguir entre aislamientos heterocigotos y homocigotos.

Algunas enzimas presentan diferentes formas moleculares aunque conservan la afinidad común por el sustrato. Existen dos tipos de diversidad genética en las enzimas: los alelos múltiples en un solo locus genético (aloenzimas) y varios loci genéticos (isoenzimas propiamente dichas) (Khaler & Price, 1986). Las aloenzimas fueron los primeros marcadores disponibles en suficiente número para

permitir estudios genéticos rigurosos de *P. infestans*. Entre más de 50 diferentes enzimas evaluadas para comparar la estructura y la diversidad genética dentro de y entre poblaciones de *P. infestans*, se encontraron con polimorfismo y con factibilidad de resolución en geles de agarosa la glucosa-6-fosfato isomerasa (GPI) E. C. 5.3.1.9. y la peptidasa (PEP) E. C. 3.4.3.1 (Fry et al., 1992; Koh et al., 1994).

Las moléculas de las aloenzimas pueden estar formadas por dos o más subunidades y, según su organización, se las llama monoméricas, diméricas, triméricas, tetraméricas, etc. GPI es una enzima dimérica. En *P. infestans* se han detectado siete alelos de GPI, seis de los cuales han sido caracterizados genéticamente.

Para comprender cabalmente la importancia de las aloenzimas como indicadores de variabilidad genética, es preciso recordar que, en las especies diploides que se reproducen sexualmente, cada individuo de la progenie recibe un juego haploide de cromosomas de cada progenitor. En algunos casos, los genes tienen diferentes formas (alelos o alelomorfos). Cuando ambos alelos tienen la misma forma, el individuo es homocigote, y en caso contrario es heterocigote (Fry et al., 1991).

Ocasionalmente se presentan alteraciones cromosómicas que afectan la ploidía normal. Se ha reportado que algunos aislamientos diploides de *P. infestans* tienen tres copias del cromosoma que lleva el gen GPI, lo cual se conoce como trisomía (Goodwin et al., 1995). Cuando un aislamiento diploide normal o trisómico es homocigote, todas las subunidades son idénticas y no cabe el polimorfismo fenotípico porque las moléculas sintetizadas tienen el mismo tamaño, entonces el patrón electroforético correspondiente es una sola banda. Pero cuando un aislamiento diploide de *P. infestans* es heterocigote, cada uno de los dos alelos produce un conjunto de subunidades de diferente tamaño. Los elementos de los dos conjuntos se pueden combinar en moléculas homodiméricas de un tamaño o del otro o en moléculas heterodiméricas. La expresión

fenotípica de estas tres diferentes moléculas es la producción de sendas bandas en el gel de electroforesis.

Cuando un aislamiento trisómico de *P. infestans* es heterocigote, caben dos posibilidades: que dos de los alelos sean iguales entre sí y diferentes al tercero (modelo AAB) o que los tres alelos sean diferentes (modelo ABC). Ambos modelos tienen su correspondencia en el tamaño de las subunidades codificadas. En el modelo AAB, se forman el homodímero AA, el heterodímero AB y el homodímero BB y cada molécula migra diferencialmente en el gel para formar tres bandas en proporción de intensidad 4:4:1, respectivamente, según la expresión  $p^2 + 2pq + q^2$ , donde  $p = 2$  es la frecuencia de A y  $q = 1$  es la frecuencia de B.

En el modelo ABC, se forman los homodímeros AA, BB y CC y los heterodímeros AB, AC, y BC y cada molécula migra diferencialmente en el gel para formar seis bandas en proporción de intensidad relativa de 1:1:1:2:2:2, respectivamente, según la expresión  $p^2 + q^2 + r^2 + 2pq + 2pr + 2qr$ , donde  $p = q = r = 1$  son las frecuencias de A, B, y C. Cuando el peso de la subunidad intermedia es igual al promedio de los pesos de las subunidades grande y pequeña (ejemplo A = 84, B = 92 y C = 100), el heterodímero AC comigra con el homodímero BB, con el resultado que el número de bandas se reduce a cinco o menos y sus intensidades relativas se desvían de la proporción esperada. La comigración puede evitarse cambiando las condiciones de separación, o por aislamientos de enzimas de un solo compartimento (Rothe, 1994). Cuando las isoenzimas no quedan bien definidas en los geles, los heterocigotes pueden mostrar una amplia zona de actividad en lugar de lo predicho para dos o más bandas distintas.

Antes de 1980 las poblaciones de *P. infestans* en todo el mundo, excepto en el valle de Toluca en México, estaban compuestas por individuos A1, con genotipo para GPI 86/100 y para PEP 92/100, sensibles al fungicida metalaxil y con combinaciones de virulencia simples.

Esta investigación se orientó a caracterizar las poblaciones de *P. infestans* presentes durante el ciclo de cultivo de la papa en Cundinamarca y Boyacá entre 1995 y 1996, mediante el polimorfismo de la aloenzima glucosa-6-fosfato isomerasa (GPI) E.C. 5.3.1.9. y a determinar la afinidad aloenzimática de las poblaciones nativas con las de otras localidades dentro y fuera de Colombia. Este trabajo forma parte de un proyecto diseñado para examinar el polimorfismo de las poblaciones de *P. infestans* en Cundinamarca y Boyacá. González (1997) reportó resultados relativos a la resistencia de *P. infestans* al fungicida metalaxil y a la presencia de tipos de apareamiento.

## MATERIALES Y METODOS

Las colecciones de las cuales se obtuvieron los aislamientos de *P. infestans* se efectuaron entre julio y noviembre de 1995 y, en marzo de 1996 en las variedades 'Parda Pastusa', 'Tuquerreña', y 'R12' en Cundinamarca y Boyacá en una oscilación de altitud entre 2500 y 3300 m.s.n.m. Las plantas de donde se tomaron las muestras presentaban toda la gama de estados fenológicos. El número de muestras por campo fue variable y el total de aislamientos analizados fue de 55.

El trabajo de laboratorio se realizó en la Universidad Nacional de Colombia, sede Santafé de Bogotá. Los equipos, instrumentos y reactivos utilizados fueron los de aplicación rutinaria en el aislamiento y cultivo de microorganismos y en la electroforesis de proteínas. Las muestras se lavaron con agua destilada y se pusieron a secar en toallas de papel, se cortaron en pequeños trozos con lesiones esporulantes; cada trozo se colocó debajo de una rodaja de tubérculo de papa variedad Tuquerreña de cinco mm de grueso cortada asépticamente, en cajas de petri estériles de 10 mm y se incubó a temperatura ambiente. El micelio de *P. infestans* comenzó a crecer aproximadamente a los cinco días y tres días más tarde emergió en la superficie superior de la rodaja. En este momento se tomó una porción de

micelio y se sembró en agar-arveja con 0.1 g/L de benlate® (benomyl) en tubos de vidrio y cajas de petri estériles. Estos cultivos se dejaron incubar en condiciones de laboratorio. Los aislamientos se multiplicaron por 10 días, a partir de pequeñas porciones de micelio, en caldo de arveja en frascos de compota en condiciones de laboratorio.

Para la extracción de proteínas se usaron cultivos de 10 días de edad; cada cultivo se filtró a través de toallas de papel absorbente y se secó el exceso de medio, se pesó y posteriormente se guardó en tubos de microcentrifuga de 1.5 mL previamente pesados y marcados. Todo el proceso se realizó en cuarto frío a 5°C; luego cada muestra se vació en morteros previamente refrigerados, se adicionó nitrógeno líquido hasta cubrirla totalmente, se maceró y se le agregó 1,000 µL de buffer de extracción Tris-HCl 1M pH 7.5; cada muestra se vertió de nuevo en su respectivo tubo y se homogenizó en vortex durante cinco minutos; posteriormente se centrifugó a 13,000 g durante 30 minutos. Se descartó el pellet y el sobrenadante se guardó a -25°C hasta efectuar la electroforesis.

## ELECTROFORESIS

Los soportes para la separación de las enzimas varían en tamaño de poro, por lo cual el soporte utilizado depende del tamaño de las moléculas para analizar. Las electroforesis se realizaron en gel de poliacrilamida del 12.5 % y en acetato de celulosa en condiciones no desnaturalizantes. Los alelos de las aloenzimas fueron designados por números que representan su movilidad relativa (Tooley et al., 1985).

## ELECTROFORESIS EN GEL DE POLICRILAMIDA

Las muestras se descongelaron y se centrifugaron durante 15 minutos a 13,000 g, 5°C, y posteriormente se cargaron en el gel; para esto se tomaron 8 µL de cada muestra; los pozos 2 al 7 se asignaron a las muestras experimentales y el pozo 8 al marcador de corrido (azul de bromofenol al 25% y ficoll al 25%) el cual permitió visualizar la evolu-

ción de la electroforesis, también se usó como marcador constante el aislamiento 252L. Las muestras se corrieron durante 150 minutos a 50 miliamperios constantes (cámara para electroforesis en gel vertical de proteínas Hoeffer Mighty Small SE 245 gel de 8 x 7 cm); luego se procedió a hacer la tinción superficial (overlay) siguiendo el procedimiento descrito por Goodwin et al. (1995).

## ELECTROFORESIS EN ACETATO DE CELULOSA

Las láminas de acetato de celulosa se sumergieron en el buffer electrodo durante 20 minutos como preparación para el corrido de las muestras. Cuando estuvieron listas, se retiraron del buffer y se secaron con toallas de papel absorbente, luego cada lámina se colocó con la emulsión hacia arriba para la aplicación de las muestras. Las muestras se prepararon de la misma manera que para la electroforesis en gel de poliacrilamida y fueron colocadas en los pozos 2 al 7; el pozo 1 contenía el marcador constante, el aislamiento Ro, y el pozo 8 contenía el marcador de corrido. Una vez cargadas las láminas éstas se colocaron inmediatamente en la cámara de electroforesis (cámara zipzone de Helena Laboratories, acetato de 9.5 x 7.5 cm).

La cámara de electroforesis se cargó con 360 mL de buffer del electrodo repartidos equitativamente en cada uno de los reservorios. Se colocaron sendas tiras de papel sobre los carriles de soporte de los geles; una vez éstos se humedecieron, se colocaron las láminas con la emulsión hacia abajo y con el origen hacia el cátodo. Se tapó la cámara y se puso a correr a 200 voltios constantes durante 20 minutos. Luego del corrido de las muestras, se procedió a hacer la misma tinción que se utilizó para geles de poliacrilamida.

La velocidad de desplazamiento de las enzimas en geles o en láminas de acetato es inversamente proporcional a su masa, de modo que las diferencias fenotípicas en tamaño se reflejan en la distancia recorrida en un tiempo dado. Al fenotipo más común se le asignó un valor arbitrario de 100, y a los

otros fenotipos se les asignan valores menores o mayores según se desplazaran más lejos o más cerca del fenotipo 100 en el gel respectivamente.

Una vez que se revelaron las bandas en los geles y láminas, se procedió a hacer el registro fotográfico y la comparación de los fenotipos de los aislamientos locales con los fenotipos de los aislamientos de referencia.

## RESULTADOS

Todos los aislamientos locales presentaron un genotipo 100/100 para GPI el cual produce una banda en el gel; igual comportamiento mostró el aislamiento HIN (aislamiento con virulencia para todos los genes de resistencia excepto el 5 y 9) cuya banda se situó en la misma zona de actividad que la de los locales, presentando por tanto un genotipo 100/100. El aislamiento Ro (sin genes de avirulencia específicos) presentó el genotipo 86/100 y el aislamiento MT2 presentó el genotipo 84/100.

## DISCUSION

La ausencia de variación en el genotipo 100/100 para GPI, revelado por los aislamientos locales, indica que la población de *P. infestans* presente en el altiplano Cundiboyacense es genéticamente homogénea, al menos para esta enzima, ya que sólo persiste un genotipo a partir del cual se propaga el patógeno. Esto sugiere que la población se reproduce asexualmente, perpetuando la especie de manera clonal; este resultado también es consistente con la caracterización por sensibilidad al fungicida metalaxil y por tipo de apareamiento realizada por González (1997).

El resultado observado con el aislamiento Ro indica que es heterocigoto para los alelos 86 y 100. Este aislamiento parece ser una excepción a la regla de diploidía de *P. infestans*, es decir, este aislamiento probablemente tiene una copia extra de cromosomas (trisomía) que afecta al locus Gpi, teniendo por tanto dos copias del alelo 100 y una del alelo 86 y por consiguiente, se

produce un desbalance en el patrón heterocigótico normal mostrando una relación de intensidades de 1:4:4 para las bandas 86/86, 86/100 y 100/100, estos resultados son congruentes con lo descritos por Goodwin et al. (1995) para el aislamiento US-1.

El aislamiento MT2 es un heterocigoto diploide con los alelos 84 y 100 en el locus Gpi. Tanto el aislamiento Ro, como el MT2, representan poblaciones con heterogeneidad, posiblemente como resultado de recombinación sexual.

Actualmente, la mayoría de reportes sobre caracterizaciones enzimáticas de *P. infestans* se realizan a través de GPI debido a que ésta es una enzima multilocus (Miller et al., 1997) que permite determinar con exactitud cualquier genotipo.

Al comparar el genotipo expresado por los aislamientos del altiplano Cundiboyacense (100/100) y tipo de apareamiento A1 (González, 1997) con genotipos reportados en Estados Unidos, se observa que los genotipos locales son similares al linaje US-6 (100/100) que migró de México desplazando las poblaciones antiguas (US-1).

Debido a que las poblaciones del altiplano Cundiboyacense parecen conformarse por individuos recientemente introducidos y que el tipo de apareamiento A2 no fue detectado, es conveniente plantear una hipótesis que explique el posible origen del genotipo (100/100) en Colombia, particularmente a la región muestreada. Esta hipótesis se basa en que este aislamiento es el representante de una segunda introducción al país, la cual posiblemente desplazó las poblaciones antiguas que debieron tener un genotipo 86/100; este desplazamiento podría atribuirse a una mayor agresividad y sensibilidad reducida a fungicidas (González, 1997) por parte del nuevo inmigrante, lo cual le permitió adaptarse rápidamente en el nuevo ambiente. Esta hipótesis está basada en el hecho de que el primer aislamiento que salió de México (centro de origen de *P. infestans*) corresponde al genotipo descrito como US-1 (86/100). Desafortunadamente,

aunque esta es una hipótesis lógica que sigue la ruta normal de migración de *P. infestans* es difícil de confirmar ya que no hay registros anteriores de la evolución del patógeno desde su arribo al país. Esta hipótesis es consistente con la hipótesis planteada por Goodwin et al. 1994 quienes dicen que la mayoría de los continentes estuvieron dominados por US-1 y, también, es consistente con la hipótesis planteada por Forbes et al. (1997) quienes afirman que los genotipos presentes en Ecuador son 90/100 para GPI y 96/100 para PEP lo cual sugiere que pertenecen a un linaje clonal recientemente introducido, el cual desplazó la población US-1 originalmente presente.

Aunque no fue posible realizar la comparación de los aislamientos del altiplano Cundiboyacense con los de Antioquia, debido a que allí la caracterización fue realizada a través de la enzima peptidasa PEP se presenta consistencia en la ausencia de polimorfismo, es decir, que sus aislamientos son monomórficos heterocigotos que corresponden a una población homogénea. De otro lado, los genotipos detectados en Antioquia son 92/100 para PEP, con lo cual los autores asumen que este genotipo correspondería al linaje US-1, representante de la primera migración de México a Estados Unidos; sin embargo, no hay consistencia total, ya que estos aislamientos antioqueños fueron reportados como resistentes a metalaxil y con virulencias complejas, características que no corresponden a las del US-1 sensible al metalaxil y con virulencias simples.

## BIBLIOGRAFIA

**CASTAÑEDA, D. & MORALES, J.** 1996. Caracterización de aislamientos monozoospóricos de *Phytophthora infestans* por análisis de zimodemas. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín.

**DAGGET, S. S., GOTZ, E., & THERRIEN, C. D.** 1993. Phenotypic changes in populations of *Phytophthora infestans* from eastern Germany. *Phytopathology* 83: 319-323.

**FORBES, G. A., ESCOBAR, X. C., AYALA, C. C., REVELO, J., ORDONEZ, 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, L. J., MANTEL, B. C., 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., MATUSZAK, J. M., SPIELMAN, L. J., MILGROOM, M. G., & DRENTH, A.** 1992. Population genetics and intercontinental migrations of *Phytophthora infestans*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 30: 107-129.

**FRY, W. E., GOODWIN, S. B., DRENTH, A., TOOLEY, P. W., SUJKOWSKY, L. S., KOH, Y. J., COHEN, B. A., SPIELMAN, L. J., DEALTH, K. L., INGLIS, D. A., & SANDLAN, K. P.** 1993. Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: Chronology, pathways, and implications. *Plant Disease* 77: 653-661.

**GONZALEZ, G. P.** 1997. Caracterización de las poblaciones de *Phytophthora infestans* con base en el tipo de apareamiento y sensibilidad al fungicida metalaxyl en el altiplano cundiboyacense. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia sede Santafé de Bogotá.

**GOODWIN, S. B., COHEN, B. A., DEALTH, K. L., & FRY, W. E.** 1994. Migration from northern Mexico as the probable cause of recent genetic changes in populations of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 84: 553-558.

**GOODWIN, S. B., SCHNEIDER, R. E., & FRY, W. E.** 1995. Use of cellulose-acetate electrophoresis for rapid identification of allozyme genotypes of *Phytophthora infestans*. *Plant Disease* 79: 1181-1185.

**KHALER, A. L., & PRICE, S. C.** 1986. Isozymes in population genetics, systematics, and evolution of grasses. *Int. Grass Symp.*

**MAZO, J. J. & PATIÑO, L. F.** 1995. Determinación de razas fisiológicas y tipo de apareamiento en aislamientos de *Phytophthora infestans*. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín.

**MILLER, J. S., HAMM, P. B., & JOHNSON, D. A.** 1997. Characterization of *Phytophthora infestans* population in the Columbia basin of Oregon and Washington from 1992 to 1995. *Phytopathology* 87: 656-660.

**RAMIREZ, D.** 1996. Caracterización genética de aislamientos de *Phytophthora infestans* en el departamento de Antioquia. Tesis de Biólogo. Universidad de Antioquia.

**ROTHER, G. M.** 1994. Electrophoresis of enzymes laboratory methods. Págs. 273-301 En: Data evaluation in population genetics and evolution. Springer Verlag, Berlin.

**SMITH, I. M., DUNEZ, J., PHILLIPS, D. H., LELLIOT, R. A., & ERCHER, S. A.** 1992. Capítulo 8 En: Manual de enfermedades de las plantas. Págs. 240-243. Ediciones Mundiprensa, Madrid.

**TOOLEY, P. W., FRY, W. E., & VILLARREAL-GONZALEZ, M. J.** 1985. Isozyme characterization of sexual and asexual *Phytophthora infestans* populations. *J. Heredity* 76: 431-435.

**WHITTAKER, R. H.** 1975. Communities and ecosystems. 2a. Edición. Macmillan, Nueva York. p. 385.