



Identificación molecular de los tipos de compatibilidad en poblaciones de *Podosphaera xanthii* (Erysiphaceae) infectando cucurbitáceas en Veracruz, México

Molecular identification of mating types in populations of *Podosphaera xanthii* (Erysiphaceae) infecting cucurbits in Veracruz, Mexico

Rosario Gregorio-Cipriano¹ , Dolores González^{1,2} 

Resumen:

Antecedentes y Objetivos: La formación de casmotecios (fase sexual) en *Podosphaera xanthii*, el hongo agente causal de la cenicienta en las cucurbitáceas, no es habitual. La ausencia de uno de los tipos de apareamiento o de compatibilidad (TC) *MAT1-1* o *MAT1-2*, o una proporción desigual, es la explicación más probable. En este trabajo se identificaron y cuantificaron los TC presentes en poblaciones de *P. xanthii* infectando cucurbitáceas en diversas localidades de Veracruz, México.

Métodos: De 2018 a 2021 durante las cuatro estaciones, se recolectaron muestras de *P. xanthii* en cultivos de calabaza, chilacayote y pepino en 28 localidades. Se hicieron preparaciones microscópicas para corroborar la presencia de casmotecios. Se extrajo ADN de 114 muestras para identificar los TC con una PCR múltiple usando oligonucleótidos específicos para los genes *MAT1-1-1* y *MAT1-2-1* de *P. xanthii*. La amplificación se verificó mediante electroforesis. Las frecuencias de TC por campo de cultivo, estación del año, año de colecta y hospedante se analizaron usando χ^2 .

Resultados clave: Ningún espécimen presentó casmotecios. Sesenta y cuatro amplificaron ambos genes, 34 solo *MAT1-2-1* y 16 únicamente *MAT1-1-1*. No hubo diferencias en la proporción de los TC por campo de cultivo, estación del año o año de recolección. En contraste, la proporción por hospedante sí tuvo diferencias ($\chi^2=16.856$, $p=0.009$). Esta relación fue significativa solamente en *Cucurbita moschata* con una mayor proporción de *MAT1-1-1* ($p=0.002$) y en *C. okechobeensis* subsp. *martinezii* con una mayor proporción de *MAT1-2-1* ($p=0.01$).

Conclusiones: Ambos TC necesarios para la reproducción sexual de *P. xanthii* se encuentran en una proporción cercana a 1:1 en la mayoría de las poblaciones de Veracruz. Por lo tanto, la ausencia de casmotecios no parece estar relacionada con la falta de uno de ellos, sino con diferentes factores que necesitan ser evaluados.

Palabras clave: cenicienta, Cucurbitaceae, factor de transcripción, idiomorfos, *MAT1-1*, *MAT1-2*.

Abstract:

Background and Aims: The formation of chasmothecia (sexual phase) in *Podosphaera xanthii*, the fungus that causes powdery mildew in cucurbits, is unusual. Absence of one of the mating or compatibility types (CT) *MAT1-1* or *MAT1-2*, or an unequal ratio, is the most likely explanation. In this work, the CT present in *P. xanthii* populations infecting cucurbits were identified and quantified in various localities from Veracruz, Mexico.

Methods: Samples of *P. xanthii* were collected in squash, chilacayote, and cucumber crops in 28 localities from 2018 to 2021 during the four seasons. Microscopic preparations were made to corroborate the presence of chasmothecia. DNA was extracted from 114 samples to identify the CT with multiplex PCR using specific oligonucleotides for genes *MAT1-1-1* and *MAT1-2-1* from *P. xanthii*. Amplification was verified by electrophoresis. Compatibility type frequencies by crop field, season, collection year, and host were analyzed using χ^2 .

Key results: None of the specimens examined had chasmothecia. Sixty-four amplified both genes, 34 only *MAT1-2-1*, and 16 just *MAT1-1-1*. There were no differences in the ratio of CT by crop field, season, or collection year. In contrast, proportion per host presented differences ($\chi^2=16.856$, $p=0.009$). This relationship was only significant in *Cucurbita moschata* with a higher proportion of *MAT1-1-1* ($p=0.002$) and in *C. okechobeensis* subsp. *martinezii* with a higher proportion of *MAT1-2-1* ($p=0.01$).

Conclusions: Both CT required for *P. xanthii*'s sexual reproduction were found in a ratio close to 1:1 in most populations from Veracruz. Therefore, the lack of chasmothecia is not apparently related to the absence of one of them but to different factors that need to be evaluated.

Key words: Cucurbitaceae, idiomorphs, *MAT1-1*, *MAT1-2*, transcription factor, powdery mildew.

¹Instituto de Ecología, A.C., Red de Biodiversidad y Sistemática, Carretera Antigua a Coatepec 351, El Haya, 91070 Xalapa, México.

²Autor para la correspondencia: dolores.gonzalez@inecol.mx

Recibido: 4 de mayo de 2022.

Revisado: 24 de mayo de 2022.

Aceptado por Marie-Stéphanie Samain: 9 de junio de 2022.

Publicado Primero en línea: 29 de junio de 2022.

Publicado: Acta Botanica Mexicana 129 (2022).

Citar como: Gregorio-Cipriano, R. y D. González. 2022. Identificación molecular de los tipos de compatibilidad en poblaciones de *Podosphaera xanthii* (Erysiphaceae) infectando cucurbitáceas en Veracruz, México. Acta Botanica Mexicana 129: e2068. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm129.2022.2068>



Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia Creative Commons 4.0 Atribución-No Comercial (CC BY-NC 4.0 Internacional).

e-ISSN: 2448-7589

Introducción

Las cucurbitáceas tienen un alto valor económico en México debido a su consumo interno y exportación. La derrama económica que se genera por esta última es de más de 755.5 millones de dólares (SIAP, 2020). Los cultivos de cucurbitáceas son susceptibles a numerosas enfermedades que repercuten sobre su valor comercial y rendimiento. Una de las más comunes y severas es la cenicilla (Pérez-García et al., 2009; Lebeda et al., 2018); su agente causal es el hongo fitopatógeno *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff (Erysiphaceae, Erysiphales, Ascomycota; Fig. 1), el cual predomina en las cucurbitáceas en México (Félix-Gastélum et al., 2005; Bojórquez-Ramos et al., 2012; León de la Rocha et al., 2020; Gregorio-Cipriano et al., 2022).

Podosphaera xanthii es un hongo heterotálico (McGrath, 1994; Pirondi et al., 2015), pero la fase sexual (teleomorfo), reconocida por la presencia de casmotecios, solo se ha observado esporádicamente en algunas regiones del mundo (McGrath, 1994; Vakalounakis y Klironomou, 1995; Bardin et al., 1997; Pirondi et al., 2015). En México, se ha registrado únicamente en ejemplares recolectados en cultivos de *Cucurbita* spp. y *Cucumis sativus* L. en el Valle del Fuerte y el Valle de Culiacán, Sinaloa (Félix-Gastélum et al., 2005; Bojórquez-Ramos et al., 2012) y en Tehuacán, Puebla (León-De la Rocha, 2020). En Sinaloa, se recolectaron muestras de *P. xanthii* infectando otras especies de Cucurbitaceae (*Cucumis melo* L. (melón), *Cucurbita foetidissima* Kunth (meloncillo silvestre), *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai (sandía) y *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. (bule)), pero ninguna presentó el teleomorfo (Félix-Gastélum et al., 2005). De manera similar, se ha reportado la ausencia de casmotecios en 90 especímenes de *P. xanthii* recolectados en 13 especies de cucurbitáceas en tres regiones de México (Gregorio-Cipriano et al., 2022). La escasa reproducción sexual en *P. xanthii* se ha atribuido a la ausencia de uno de los dos tipos de compatibilidad (TC) necesarios para la reproducción sexual o a su proporción desigual (Brewer et al., 2011; Gadoury et al., 2010; Wolfenbarger et al., 2015).

La recombinación sexual en hongos fitopatógenos es importante para su adaptación y para la creación de nuevas combinaciones de alelos virulentos o resistentes a fun-

gicidas, lo que representa un mayor riesgo para los cultivos (McGrath et al., 1996; McDonald y Linde, 2002). En algunos hongos, la estructura sexual puede ayudar a su supervivencia durante la ausencia del hospedante; especialmente en hongos patógenos biótrofos como *P. xanthii* (Wolfenbarger et al., 2015). En los Ascomycota filamentosos, como *P. xanthii*, la reproducción sexual está controlada por un solo locus regulador para el tipo de apareamiento o compatibilidad y es denominado *MAT1* (Glass et al., 1990). Este locus consta de dos secuencias de ADN alternativas (*MAT1-1* y *MAT1-2*) conocidas como idiomorfos en lugar de alelos, debido a que sus nucleótidos no están claramente relacionados por estructura o descendencia común (Metzenberg y Glass, 1990; Turgeon y Yoder, 2000). Estos idiomorfos se identifican por la presencia de dominios conservados que regularmente codifican dos factores de transcripción denominados *MAT1-1-1* y *MAT1-2-1* (Becker et al., 2015).

El locus *MAT1* en Erysiphales se estudió por primera vez a partir de la secuencia genómica de un aislado de *Blumeria graminis* (DC.) Speer con el idiomorfo *MAT1-2* (Spanu et al., 2010). Posteriormente, Brewer et al. (2011) describieron ambos idiomorfos (*MAT1-1* y *MAT1-2*) para *Erysiphe necator* Schwein. y diseñaron oligonucleótidos degenerados para amplificar los genes de los factores de transcripción *MAT1-1-1* y *MAT1-2-1*, lo cual ha facilitado la identificación de los TC en otras especies de Erysiphales.

Se han diseñado oligonucleótidos específicos para amplificar los dos idiomorfos de *P. xanthii*: los pares de oligonucleótidos aboxF2/aboxR2 amplifican el gen *MAT1-1-1* y hmgF2/hmgR2 el gen *MAT1-2-1* (Pirondi et al., 2015). El TC se determina con una PCR múltiple. Los productos generados se discriminan uno del otro en una electroforesis, debido a que son diferentes en tamaño: *MAT1-1-1*=167 pares de bases (pb) y *MAT1-2-1*=228 pb (Pirondi et al., 2015). Es una técnica sencilla para conocer la distribución de los TC en poblaciones de *P. xanthii*, la cual se utilizó en este estudio con el objetivo de corroborar si la ausencia de casmotecios en *P. xanthii* se debe a la falta o a una baja proporción de uno de los tipos de compatibilidad. Para abordar esta pregunta se determinó la distribución de los genes *MAT1-1-1* y *MAT1-2-1* en poblaciones infectando especies de cucurbitáceas (cultivadas y silvestres) en diferentes localidades de Veracruz, México.





Figura 1: Cenicilla causada por *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff infectando hojas de calabaza (*Cucurbita pepo* L.).

Materiales y Métodos

Obtención de muestras

Durante abril de 2021 se realizó un muestreo dirigido para recolectar hojas con signos de cenicilla en tres parcelas con cultivos de calabaza zucchini (*Cucurbita pepo* L.) en el municipio Emiliano Zapata, Veracruz, México. De cada parcela

se obtuvieron entre 10 y 20 hojas, con diferentes etapas de infección, tratando de cubrir todo el campo de cultivo (Fig. 2; Cuadro 1).

Se hicieron preparaciones microscópicas (Zeiss, K7, Jena, Alemania) para identificar y confirmar que todas las hojas estuvieran infectadas por *P. xanthii*. Los datos morfo-

lógicos (Fig. 3) se compararon con las descripciones publicadas en el manual taxonómico de Erysiphaceae de Braun y Cook (2012). Además, se incluyeron 66 especímenes de *P. xanthii* previamente recolectados e identificados (Gregorio-Cipriano, 2022; Gregorio-Cipriano et al., 2022) que se detallan en el Cuadro 1.

Identificación de los tipos de compatibilidad

Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación

Se obtuvieron 114 muestras de ADN (Fig. 2; Cuadro 1). Sesenta y seis correspondieron a especímenes previamente recolectados (Gregorio-Cipriano, 2022; Gregorio-Cipriano et al., 2022) y 48 a las hojas provenientes de las tres parcelas muestrea-

das. De cada hoja se seleccionó una lesión de cenicilla ($>1\text{cm}^2$) para la extracción de ADN. Cada lesión se cortó y se colocó en un tubo de microcentrifuga de 1.5 ml. Se agregaron 400 μl de buffer de extracción del kit comercial DNeasy® Plant Mini Kit (50) de QIAGEN (Düsseldorf, Alemania) y se agitaron en un vórtex Thermolyne (Dubuque, Iowa, EUA) durante 20 s para liberar micelio, conidióforos y conidios. Posteriormente, la suspensión se transfirió a un tubo nuevo. La extracción se realizó siguiendo las especificaciones del proveedor. Para 11 muestras de las 66 recolectadas con anterioridad, el micelio, conidióforos y conidios se recuperaron haciendo un raspado con la ayuda de un pincel estéril para colocarse en un tubo con 400 μl del buffer de extracción y siguiendo el procedimiento anterior. Las 55 muestras de ADN restantes se obtuvieron siguiendo la metodología descrita por Gregorio-Cipriano et al. (2020).

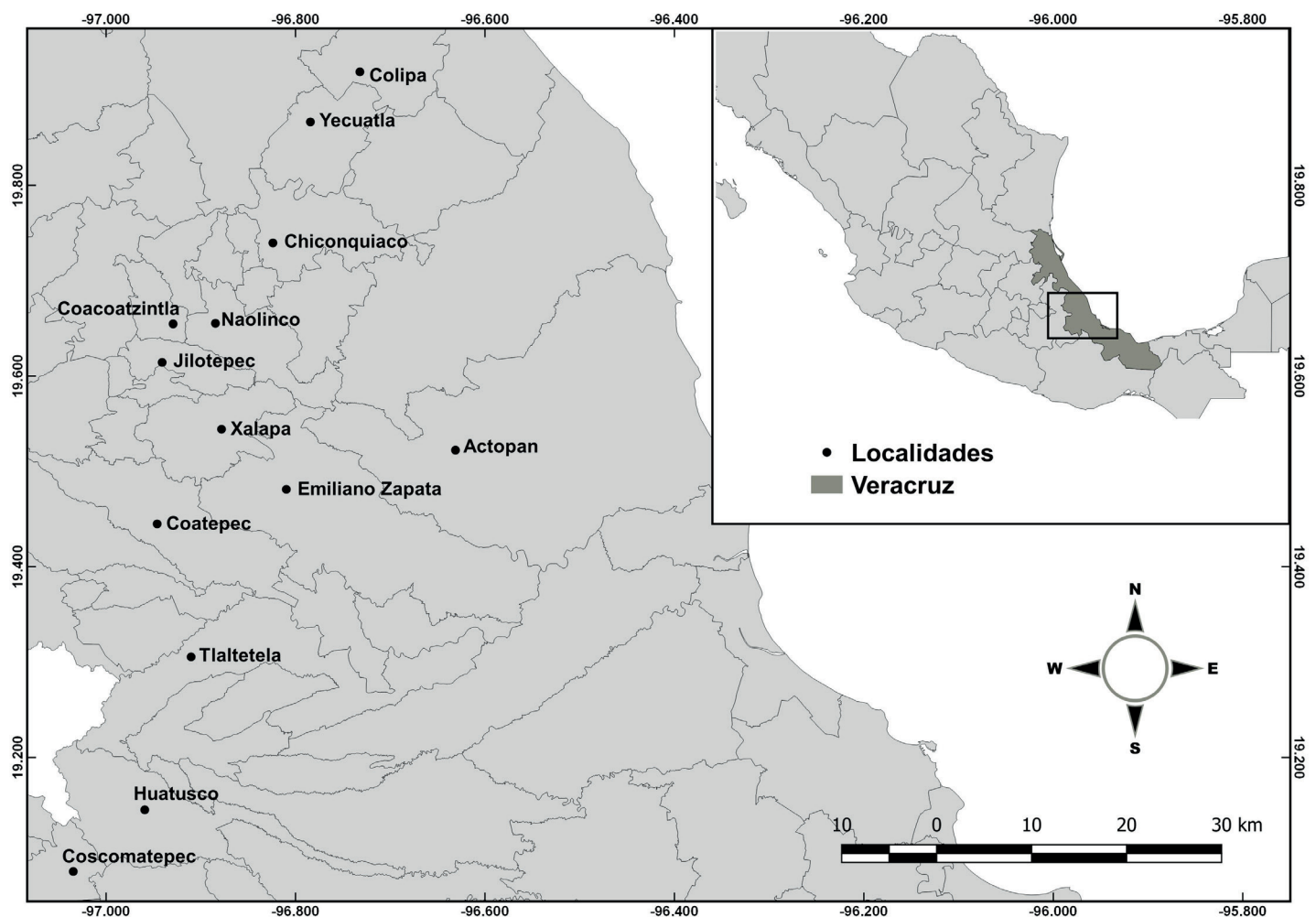


Figura 2: Localidades (municipios) de recolectas de especímenes de *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff. Mapa elaborado por Aline G. Ruiz Cázares.

Cuadro 1: Muestras de ADN de *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff provenientes de diferentes localidades de Veracruz, México, y las frecuencias detectadas en los genes *MAT1-1-1*, *MAT1-2-1* o ambos. *C. o.* subsp. *martinezii* = *Cucurbita okeechobeensis* subsp. *martinezii*; P1, P2 y P3 = Parcela 1, 2 y 3.

Hospedante	Municipio	Estación	Año	Muestras	<i>MAT1-1-1</i>	<i>MAT1-2-1</i>	Ambos
<i>Cucumis sativus</i> L.	Actopan	Invierno	2018	4	0	0	4
<i>Cucurbita ficifolia</i> Bouché	Yecuatla	Verano	2020	3	0	0	3
<i>C. moschata</i> Duchesne	Chiconquiaco	Verano	2019	2	1	0	1
<i>C. moschata</i>	Coacoatzintla	Invierno	2020	2	2	0	0
<i>C. moschata</i>	Coatepec	Verano	2019	2	2	0	0
<i>C. moschata</i>	Colipa	Verano	2019	2	2	0	0
<i>C. moschata</i>	Coscomatepec	Verano	2019	2	2	0	0
<i>C. moschata</i>	Huatusco	Verano	2019	2	1	0	1
<i>C. moschata</i>	Naolinco	Verano	2019	2	1	0	1
<i>C. moschata</i>	Naolinco	Invierno	2020	2	2	0	0
<i>C. moschata</i>	Tlaltetela	Verano	2019	2	2	0	0
<i>C. moschata</i>	Xalapa	Verano	2018	2	0	1	1
<i>C. moschata</i>	Xalapa	Otoño	2018	4	0	3	1
<i>C. moschata</i>	Yecuatla	Verano	2019	2	1	0	1
<i>C. o.</i> subsp. <i>martinezii</i> (L.H. Bailey) Walters & Deck.-Walt.	Coscomatepec	Verano	2019	2	0	0	2
<i>C. o.</i> subsp. <i>martinezii</i>	Huatusco	Verano	2019	4	0	2	2
<i>C. o.</i> subsp. <i>martinezii</i>	Xalapa	Verano	2018	8	0	6	2
<i>C. o.</i> subsp. <i>martinezii</i>	Xalapa	Otoño	2018	4	0	4	0
<i>C. o.</i> subsp. <i>martinezii</i>	Xalapa	Invierno	2019	2	0	2	0
<i>C. o.</i> subsp. <i>martinezii</i>	Jilotepec	Invierno	2020	1	0	1	0
<i>Cucurbita pepo</i> L.	Emiliano Zapata P1	Primavera	2021	22	0	2	20
<i>C. pepo</i>	Emiliano Zapata P2	Primavera	2021	12	0	4	8
<i>C. pepo</i>	Emiliano Zapata P3	Primavera	2021	14	0	6	8
<i>C. pepo</i>	Xalapa	Verano	2018	4	0	0	4
<i>C. pepo</i>	Xalapa	otoño	2019	1	0	1	0
<i>C. pepo</i>	Xalapa	Invierno	2020	3	0	2	1
<i>C. radicans</i> Naudin	Coatepec	Verano	2019	2	0	0	2
<i>Cucurbita</i> sp.	Coatepec	Invierno	2018	2	0	0	2
Total				114	16	34	64

Los idiomorfos de las 114 muestras de *P. xanthii* se identificaron con una PCR múltiple usando los oligonucleótidos específicos para los genes del factor de transcripción de cada idiomorfo: aboxF2/aboxR2 (gen *MAT1-1-1*, de 167 pb) y hmgF2/hmgR2 (gen *MAT1-2-1*, de 228 pb). Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un termociclador Eppendorf (Hamburgo, Alemania), en un volumen de 25 µl. Para la reacción se usaron los siguientes reactivos: 0.125 µl

de Flexi Go Taq polimerasa Promega® (5U/µl), 5 µl de Go Taq® Flexi Buffer Promega (5×) (Madison, Wisconsin, EUA), 3 µl de MgCl₂ (25mM), 0.5 µl dNTPs (10mM), 1 µl de cada oligo (10µg/ml), 5-30 ng de muestra de ADN. Las condiciones de PCR consistieron en una desnaturalización inicial de 95 °C por 3 min, seguido por 35 ciclos a 95 °C por 30 s, 52 °C por 30 s y 72 °C por 60 s, y una extensión final a 72 °C por 5 min (Pirondi et al., 2015). Los productos de PCR se separa-



Figura 3: Características morfológicas de la fase asexual de *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff. A. conidióforo con conidios en cadena; B. conidios mostrando cuerpos de fibrosina; C. conidio mostrando tubo germinativo.

ron en gel de agarosa al 2.0% en 0.5 × TBE buffer, teñido con bromuro de etidio y se visualizaron bajo luz UV.

Para comprobar que las amplificaciones correspondían a los idiomorfos de *P. xanthii*, se seleccionaron y secuenciaron dos de los productos de PCR obtenidos de

MAT1-1-1 y dos de *MAT1-2-1*. La secuenciación se realizó siguiendo los procedimientos previamente descritos por Gregorio-Cipriano et al. (2020, 2022). Se corroboró la afinidad de las secuencias obtenidas con las secuencias del *MAT1-1-1* (KJ438825, HQ171903) y *MAT1-2-1* (KJ438826,



HQ171900) de *P. xanthii* disponibles en GenBank mediante el algoritmo BLASTn (NCBI, 2021).

Análisis estadísticos

La frecuencia de ambos TC se determinó por campo de cultivo, hospedante, época y año de colecta usando Excel (Microsoft, 2021). Para establecer si existen diferencias significativas en las frecuencias obtenidas de los genes *MAT1-1-1* y *MAT1-2-1* por parcela, hospedante y época o año, el análisis se realizó con la prueba Chi-Cuadrada (χ^2) y Permutación de Monte Carlo (MCP), utilizando el software PAST v. 4.10 (Hammer et al., 2001).

Resultados

Identificación de tipos de compatibilidad

En las 114 preparaciones microscópicas de *P. xanthii* hubo ausencia de casmotecios. De las muestras de ADN, 64 amplificaron los dos genes; 34 únicamente *MAT1-2-1* y 16 solo *MAT1-1-1* (Fig. 4; Cuadro 1). En particular, de las 48 muestras obtenidas del municipio Emiliano Zapata con diferentes etapas de infección, 36 presentaron ambos genes y 12 solo *MAT1-2-1* (Cuadro 1).

En las tres muestras de ADN provenientes del hospedante *Cucurbita ficifolia* Bouché (chilacayote) recolectadas en el municipio Yecuatla se observó una banda adicional no identificada de aproximadamente 800 pb (Fig. 4). Las

secuencias obtenidas de los genes *MAT1-1-1* y *MAT1-2-1* resultaron idénticas entre ellas y con las secuencias disponibles en el GenBank (NCBI, 2021), con excepción de una mutación sinónima presente en las secuencias *MAT1-2-1*. Las secuencias generadas se depositaron en el GenBank con los números de acceso: ON379370, ON379371 para *MAT1-1-1* y ON379372, ON379373 para *MAT1-2-1*.

Análisis estadísticos

En 70% de las muestras de ADN analizadas se observó el gen correspondiente al *MAT1-1-1* (80), mientras que el *MAT1-2-1* se observó en 85% (98) de las muestras. El análisis χ^2 de las frecuencias de *MAT1-1-1* y *MAT1-2-1* por parcela no detectó diferencias significativas ($p=0.659$). El radio de distribución de los TC fue cercana a la relación 1:1 en las tres parcelas del municipio Emiliano Zapata. En la Parcela 1, 90% de las muestras presentó *MAT1-1-1* y 100% *MAT1-2-1*; en la Parcela 2, 66% *MAT1-1-1* y 100% *MAT1-2-1* y en la 3, *MAT1-1-1* estuvo en 57% y *MAT1-2-1* en 100% (Fig. 5A). Los análisis χ^2 de las frecuencias de los TC por época (estación) y año de recolección mostraron que estos factores no influyeron en la frecuencia de un gen u otro (Figs. 5B, C). Por otro lado, el análisis por hospedante mostró que la frecuencia de uno u otro gen depende del hospedante (Fig. 5D). No obstante, esta relación solo fue significativa en *Cucurbita moschata* Duchesne (calabaza de castilla), la cual presentó

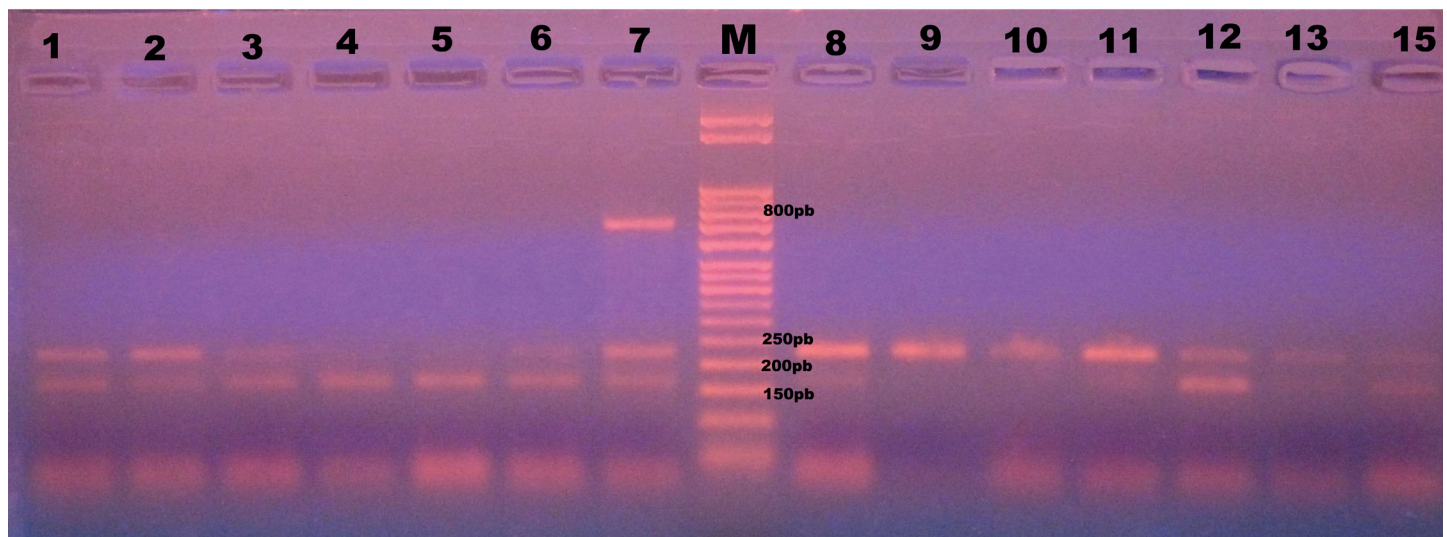


Figura 4: Idiomorfos amplificados con los oligos aboxF2/aboxR2 para el gen *MAT1-1-1* (167 pb) y hmgF2/hmgR2 para *MAT1-2-1* (228 pb). Amplificación de ambos genes (1-3, 6-8, 12-14); solo de *MAT1-1-1* (4, 5), solo de *MAT1-2-1* (9-11). En la muestra siete se observa una banda no identificada de aproximadamente 800 pb que presentaron todos los especímenes en *Cucurbita ficifolia* Bouché.

una mayor proporción de *MAT1-1-1* ($p=0.002$), mientras que en *Cucurbita okechobeensis* subsp. *martinezii* (L.H. Bailey) Walters & Deck.-Walt. (calabacilla) se presentó una mayor proporción de *MAT1-2-1* con un valor $p=0.01$.

Discusión

Este estudio evidenció que los dos TC representados por los genes *MAT1-1-1* y *MAT1-2-1* están presentes en la mayoría de las poblaciones de *P. xanthii* infectando cucurbitáceas en Veracruz, México. Ambos se encuentran en una proporción cercana al 1:1, a excepción de las asociadas a *C. moschata* y *C. okechobeensis* subsp. *martinezii*.

En contraste con lo que se ha observado para otras especies de cenicilla (Gadoury et al., 2010; Brewer et al., 2011; Wolfenbarger et al., 2015), la ausencia de casmotecios en los especímenes obtenidos durante este estudio podría no estar influenciada por la falta de uno de los TC. No obstante, en algunas especies de cucurbitáceas como *C. moschata* y *C. okechobeensis* subsp. *martinezii* sí podría estar afectando, debido a que se encontró una mayor frecuencia de *MAT1-1-1* y *MAT1-2-1*, respectivamente.

La presencia diferencial de los TC dependiendo del hospedante podría ser una explicación de lo que se observó en Sinaloa, pues en la misma región y época del año se encontraron casmotecios en los cultivos de calabaza (*Cucurbita* spp.) y pepino (*Cucumis melo*), pero no en bule (*Lagenaria siceraria*), melón (*Cucumis melo*), meloncillo (*Cucurbita foetidissima*) y sandía (*Citrullus lanatus*) (Félix-Gastélum et al., 2005). En este estudio solo se incluyeron muestras de las dos primeras (calabaza y pepino), y se observó un porcentaje de frecuencia similar de ambos TC. Sería necesario investigar la distribución de los TC en sandía, melón, bule y meloncillo para determinar si este es un factor que determina la ausencia de casmotecios en esos hospedantes en dicha región.

Con lo anterior, solo se podría explicar la ausencia de casmotecios en *C. moschata* y *C. okechobeensis* subsp. *martinezii* en las localidades investigadas en Veracruz. En el caso de *C. pepo*, *C. sativus* y *C. ficifolia*, en donde los genes *MAT1-1-1* y *MAT1-2-1* se detectaron en una proporción similar, una explicación viable sería la atribuible a las condiciones ambientales (McGrath, 1994), pero puede deberse a algún otro factor que no se ha considerado y que requiere mayor escrutinio.

En nuestro estudio no se observaron casmotecios a pesar de la presencia de ambos TC en una sola hoja en 64 (56%) de las muestras inclusive en etapas tempranas de la infección, como ocurrió en las tres parcelas distribuidas en el municipio Emiliano Zapata. Esto contrasta con ensayos de cruzamientos *in vitro* entre ambos TC en *P. xanthii* que mostraron que en la presencia de ambos TC los casmotecios pueden formarse desde los ocho a nueve días después de la inoculación a 19/23 °C (noche/día) con 12 horas de fotoperiodo, sin necesidad de una estimulación especial de condiciones como temperaturas bajas o senescencia del tejido del hospedante (McGraght, 1994). Asimismo, Bojórquez-Ramos et al. (2012) observaron la formación de casmotecios de *P. xanthii* en hojas de pepino bajo las condiciones ambientales en invernaderos de Culiacán, Sinaloa, México. En diciembre, los casmotecios fueron abundantes, mientras que en mayo se observó una menor infección y solo en algunas variedades de plantas se formaron casmotecios. La reducción de casmotecios se atribuyó a las altas temperaturas del mes de abril, con máximos de hasta 45 °C, temperatura que superó los límites para el crecimiento de *P. xanthii*, pues la temperatura ideal para la germinación de los conidios de *P. xanthii* es 22-28 °C o 15-30 °C, mientras que la de germinación se interrumpe a temperaturas ≤ 8 °C o ≥ 35 °C (Trecate et al., 2019). En Norteamérica y Europa los casmotecios de *P. xanthii* se han observado frecuentemente durante otoño e invierno (McGrath et al., 1996), patrón que no se observó para las poblaciones de Veracruz, a pesar de que se recolectaron muestras durante diferentes estaciones del año.

Este es el primer trabajo en México en el que se exploran los TC de *P. xanthii*, y aunque se obtuvo evidencia de la presencia de los dos TC necesarios para su reproducción sexual en las poblaciones de Veracruz, en ninguna muestra se observaron casmotecios. Es necesario inspeccionar un número mayor de especímenes con síntomas y signos de cenicilla, y más poblaciones de hospedantes en diferentes épocas de siembra y etapas fenológicas del cultivo, para comprobar la ausencia de casmotecios y determinar el factor o factores que estén impidiendo la formación del estado sexual en esta región. Además, se requiere de un estudio integral en el que se determinen los TC a partir de cultivos monoconidiales; hacer ensayos de apareamiento de



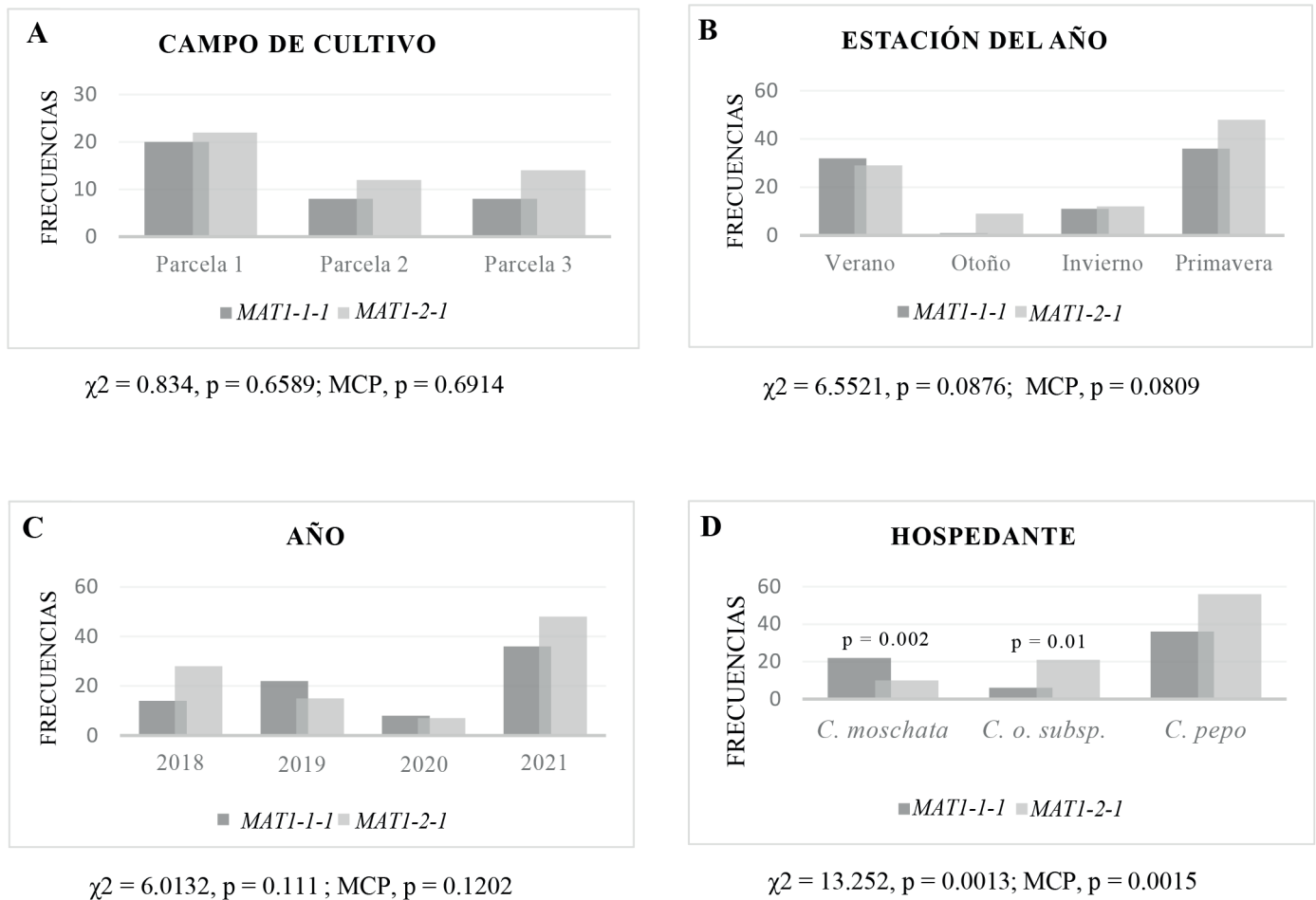


Figura 5: Frecuencias observadas del gen *MAT1-1-1* y *MAT1-2-1*. A. por campo de cultivo en Emiliano Zapata; B. estación del año; C. año de coleta; D. hospedante (solo especies con más de 10 muestras). Debajo de cada gráfica, se indican los valores de significancia estadística (p) obtenidos con la prueba Chi-cuadrada (χ^2) y la prueba de Permutación de Monte Carlo (MCP). Encima de las barras de frecuencia se indican solamente los valores estadísticos (p) que fueron significativos.

aislados con los idiomorfos *MAT1-1* y *MAT1-2* en diferentes hospedantes y condiciones de humedad relativa y temperatura, así como corroborar si existen diferencias en la tasa de crecimiento de aislados *MAT1-1* y *MAT2-1* en distintas cucurbitáceas. Estos estudios deberán incluir a la sandía y el melón, dos importantes cultivos en Veracruz que no se incluyeron en esta investigación.

Contribución de autores

RGC y DG generaron y diseñaron el estudio y participaron en la adquisición y análisis de los datos. Ambos autores contribuyeron a la discusión, revisión y aprobación del manuscrito final.

Financiamiento

Este trabajo fue apoyado por el Instituto de Ecología, A.C. (INECOL, 2003010358 DG) y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) a través de la beca 485926 otorgada a RGC para sus estudios de doctorado.

Agradecimientos

Agradecemos a Efraín de Luna por permitir el acceso al microscopio de luz, a Cristina Bárcenas por su ayuda en el trabajo de laboratorio, a Santiago Chacón, por el apoyo logístico para la obtención de los especímenes y a Aline G. Ruiz Cázares por la elaboración del mapa. También extendemos nuestro agradecimiento a Ruben Félix, Edith Garay y Santia-

go Chacón, por sus comentarios y observaciones al escrito en sus etapas iniciales, y a los editores y dos revisores anónimos que contribuyeron para mejorar este manuscrito.

Literatura citada

- Bardin, M., P. C. Nicot, P. Normand y J. M. Lemaire. 1997. Virulence variation and DNA polymorphism in *Sphaerotheca fuliginea*, causal agent of powdery mildew of cucurbits. *European Journal of Plant Pathology* 103: 545-554. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1008608413984>
- Becker, K., C. Beer, M. Freitag y U. Kück. 2015. Target genes of a mating-type a-domain transcription factor reveals functions beyond sexual development. *Molecular Microbiology* 96(5): 1002-1022. DOI: <https://doi.org/10.1111/mmi.12987>
- Bojórquez-Ramos, C., J. León-Félix., R. Allende-Molar, M. D. Murrill, J. A. Carrillo-Fasio, J. B. Valdez-Torres, F. S. M. López-Soto y R. S. García-Estrada. 2012. Characterization of powdery mildew in cucumber plants under greenhouse conditions in the Culiacan Valley, Sinaloa, Mexico. *African Journal of Agricultural Research* 7(21): 3237-3248. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJAR11.2093>
- Braun, U. y R. T. A. Cook. 2012. Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews). CBS Biodiversity Series 11. Utrecht, Netherlands. 707 pp.
- Brewer, M. T., L. Cadle-Davidson, P. Cortesi, P. D. Spanu y M. G. Milgroom. 2011. Identification and structure of the mating-type locus and development of PCR-based markers for mating type in powdery mildew fungi. *Fungal Genetics and Biology* 48(7): 704-713. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2011.04.004>
- Félix-Gastélum, R., M. A. Apodaca-Sánchez, M. C. Martínez-Valenzuela y S. Espinosa-Matías. 2005. *Podosphaera* (sect. *Sphaerotheca*) *xanthii* (Castagne) U. Brawn y N. Shishkoff en cucurbitáceas en el norte de Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 23(2): 162-168.
- Gadoury, D. M., B. Asalf, M. C. Heidenreich, M. L. Herrero, M. J. Welsler, R. C. Seem, A. M. Tronsmo y A. Stensvand. 2010. Initiation, development, and survival of cleistothecia of *Podosphaera aphanis* and their role in the epidemiology of strawberry powdery mildew. *Phytopathology* 100(3): 246-251. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-3-0246>
- Glass, N. L., J. Grotelueschen y R. L. Metzberg. 1990. *Neurospora crassa* A mating-type region. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87(13): 4912-4916. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.87.13.4912>
- Gregorio-Cipriano, R. 2022. Erysiphales causantes de cenicillas en especies de Cucurbitaceae cultivadas y silvestres en México: etiología, diversidad genética y filogenia. Tesis de doctorado. Instituto de Ecología, A. C. Xalapa, Veracruz, México. 159 pp.
- Gregorio-Cipriano, R., D. González, R. Félix-Gastélum y S. Chacón. 2020. *Neoerysiphe sechii* (Ascomycota:Erysiphales): A new species of powdery mildew found on *Sechium edule* and *Sechium mexicanum* (Cucurbitaceae) in Mexico. *Botany* 98(4): 185-195. DOI: <https://doi.org/10.1139/cjb-2019-0193>
- Gregorio-Cipriano, R., D. González, R. Félix-Gastélum y S. Chacón. 2022. Morphological and molecular identification of new records and new host plants of powdery mildews (Erysiphaceae) from Mexico. *Botany e-First*. DOI: <https://doi.org/10.1139/cjb-2021-0209>
- Hammer, Ø., D. A. T. Harper y P. D. Ryan. 2001. Past: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 1-9.
- Lebeda, A., E. Křístková, B. Sedláková, J. D. McCreight y E. Kosman. 2018. Virulence variation of cucurbit powdery mildews in the Czech Republic - population approach. *European Journal of Plant Pathology* 152: 309-326. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1476-x>
- León-De la Rocha, J. F., C. Bojórquez-Ramos, N. Francisco-Francisco, A. Olivar-Hernández, R. López-España, Y. Reyes-Duque y P. Pérez-Olvera. 2020. Identificación del agente causal del mildiu polvoriento en plantas de calabaza (*Cucurbita pepo* L.) en Tehuacán, México. *Revista de Protección Vegetal* 35(2): 1-9.
- McDonald, B. A. y C. Linde. 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology* 40: 349-379. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.120501.101443>
- McGrath, M. T. 1994. Heterothallism in *Sphaerotheca fuliginea*. *Mycologia* 86(4): 517-523. DOI: <https://doi.org/10.1080/00275514.1994.12026445>
- McGrath, M. T., H. Staniszevska y N. Shishkoff. 1996. Distribution of mating types of *Sphaerotheca fuliginea* in the United States. *Plant Disease* 80(10): 1098-1102.
- Metzenberg, R. L. y N. L. Glass. 1990. Mating type and mating strategies in *Neurospora*. *Bioessays* 12(2): 53-59.



- Microsoft. 2021. Microsoft Excel. <https://www.microsoft.com/es-mx/microsoft-365/excel> (consultado octubre de 2021).
- NCBI. 2021. National Center for Biotechnology Information. Basic Local Alignment Search Tool. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (consultado marzo de 2021).
- Pérez-García, A., D. Romero, D. Fernández-Ortuño, F. López-Ruiz, A. de Vicente y J. A. Torés. 2009. The powdery mildew fungus *Podosphaera fusca* (synonym *Podosphaera xanthii*), a constant threat to cucurbits. *Molecular Plant Pathology* 10(2): 153-160. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2008.00527.x>
- Pirondi, A., A. Pérez-García, I. Portillo, G. Battistini, C. Turan, A. Brunelli y M. Collina. 2015. Occurrence of chasmothecia and mating type distribution of *Podosphaera xanthii*, a causal agent of cucurbit powdery mildew in northern Italy. *Journal of Plant Pathology* 97(2): 307-313. DOI: <https://doi.org/10.4454/JPP.V97I2.018>
- SIAP. 2020. Panorama Agroalimentario 2020. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. Cd. Mx., México. 196 pp.
- Spanu, P. D., J. C. Abbott, J. Amselem, T. A. Burgis, D. M. Soanes, K. Stüber, E. V. L. Van Themaat, J. K. M. Brown, S. A. Butcher, S. J. Gurr, M. H. Lebrun, C. J. Ridout, P. Schulze-Lefert, N. J. Talbot, N. Ahmadinejad, C. Ametz, G. R. Barton, M. Benjdia, P. Bidzinski, L. V. Bindschedler, M. Both, M. T. Brewer, L. Cadle-Davidson, M. M. Cadle-Davidson, J. Collemare, R. Cramer, O. Frenkel, D. Godfrey, J. Harriman, C. Hoede, B. C. King, S. Klages, J. Kleemann, D. Knoll, P. S. Koti, J. Kreplak, F. J. López-Ruiz, X. Lu, T. Maekawa, S. Mahanil, C. Micali, M. G. Milgroom, G. Montana, S. Noir, R. J. O'Connell, S. Oberhaensli, F. Parlange, C. Pedersen, H. Quesneville, R. Reinhardt, M. Rott, S. Sacristán, S. M. Schmidt, M. Schön, P. Skamnioti, H. Sommer, A. Stephens, H. Takahara, H. Thordal-Christensen, M. Vigouroux, R. Weßling, T. Wicker y R. Panstruga. 2010. Genome expansion and gene loss in powdery mildew fungi reveal tradeoffs in extreme parasitism. *Science* 330(6010): 1543-1546. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1194573>
- Trecate, L., B. Sedláková, B. Mieslerová, V. Manstretta, V. Rossi y A. Lebeda. 2019. Effect of temperature on infection and development of powdery mildew on cucumber. *Plant Pathology* 68(6): 1165-1178. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppa.13038>
- Turgeon, B. G. y O. C. Yoder. 2000. Proposed nomenclature for mating type genes of filamentous ascomycetes. *Fungal Genetics and Biology* 31(1): 1-5. DOI: <https://doi.org/10.1006/fgbi.2000.1227>
- Vakalounakis, D. J. y E. Klironomou. 1995. Race and mating type identification of powdery mildew on cucurbits in Greece. *Plant Pathology* 44(6): 1033-1038. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1995.tb02662.x>
- Wolfenbarger, S. N., M. C. Twomey, D. M. Gadoury, B. J. Knaus, N. J. Grünwald y D. H. Gent. 2015. Identification and distribution of mating-type idiomorphs in populations of *Podosphaera macularis* and development of casmotecios of the fungus. *Plant Pathology* 64(5): 1094-1102. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppa.12344>

