

RESISTENCIA DE *Phytophthora infestans* (Montagne) de Bary A METALAXIL EN CULTIVO DE PAPAS EN EL NORTE DE CHILE¹

Resistance of *Phytophthora infestans* (Montagne) de Bary to metalaxyl in potato crops in Northern Chile¹

Fernando Riveros B.^{2*}, Rodrigo Sotomayor², Viviana Rivera³, Gary Secor³ y Boris Espinoza²

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the sensitivity to metalaxyl of two populations of *Phytophthora infestans* (Montagne) de Bary, affecting potato (*Solanum tuberosum* L.) crops in the IV and V Regions of Chile. A total of 254 isolates were studied *in vitro* and *in vivo* which were initially classified as sensitive or resistant according to their growth on Rye B media amended with 10 mg L⁻¹ metalaxyl. CE 50 (effective concentration) values were estimated for each isolate from a regression curve of relative colony growth expressed in Probit unit versus six metalaxyl concentrations (0, 150, 250, 350, 450 and 550 mg L⁻¹). The results of both years showed that all *P. infestans* isolates collected were resistant to metalaxyl. The CE 50 values for the isolates collected during 1999 in the IV Region ranged between 243 and 687 mg L⁻¹ of metalaxyl, 9.6% of the isolates showed CE 50 values under 300 mg L⁻¹. The CE 50 values for the isolates collected in the V Region showed values between 233 to 633 mg L⁻¹ of metalaxyl, and 10.1% of the isolates showed CE 50 values lower than 300 mg L⁻¹ of metalaxyl. All the isolates collected during 2000 were resistant to metalaxyl in both regions, 89.6 and 78.1% of the isolates collected in the IV and V region showed CE 50 values higher than 350 mg L⁻¹ of metalaxyl respectively. The result of the metalaxyl sensitivity bioassay performed in a representative number of isolates showed similar results to the *in vitro* assay. This is the first report of resistance to metalaxyl in Chile.

Key words: *Solanum tuberosum*, late blight, fungicide resistance.

RESUMEN

Con el objeto de determinar la sensibilidad a metalaxil de dos poblaciones de *Phytophthora infestans* (Montagne) de Bary, en cultivos de papa (*Solanum tuberosum* L.) en diferentes localidades de la IV y V Región de Chile, se estudiaron mediante ensayos *in vitro* e *in vivo* 254 aislamientos, los cuales inicialmente fueron calificados como sensibles o resistentes de acuerdo a su crecimiento sobre agar centeno B y 10 mg L⁻¹ de metalaxil. Su concentración efectiva media (CE 50) fue estimada mediante un modelo de regresión lineal entre el logaritmo de seis concentraciones de metalaxil (0, 150, 250, 350, 450 y 550 mg L⁻¹) y porcentaje de inhibición transformado a unidades Probit. Los resultados de ambas temporadas demostraron que la totalidad de los aislamientos de *P. infestans* fueron resistentes a metalaxil. Aislamientos colectados en la IV Región durante 1999 presentaron variaciones de CE 50 entre 243 y 687 mg L⁻¹ de metalaxil, 9,6% de ellos presentó CE 50 inferior a 300 mg L⁻¹ de metalaxil. Aislamientos colectados en la V Región variaron su CE 50 entre 233 y 633 mg L⁻¹ de metalaxil y solamente 10,1% de ellos presentó CE 50 inferior a 300 mg L⁻¹ de metalaxil. La totalidad de los aislamientos colectados en la temporada 2000 fueron resistentes al fungicida, 89,6 y 78,1% de los colectados en la IV y V Región respectivamente, presentaron CE 50 superiores a 350 mg L⁻¹ de metalaxil. Los resultados del bioensayo fueron consistentes con el trabajo *in vitro*.

Palabras clave: *Solanum tuberosum* L., tizón tardío, resistencia a fungicidas.

¹ Recepción de originales: 4 de junio de 2002 (reenviado).

² Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Intihuasi, Casilla 36/B, La Serena, Chile.
E-mail: friveros@intihuasi.inia.cl *Autor para correspondencia.

³ North Dakota State University, Department of Plant Pathology, Fargo, North Dakota 58105, USA.

INTRODUCCIÓN

El tizón tardío, enfermedad causada por *Phytophthora infestans* (Montagne) de Bary, es la principal limitante sanitaria para cultivos de papa (*Solanum tuberosum* L.), que se establecen anualmente en la IV y V Región de Chile. Condiciones de clima húmedo y moderadamente frío favorecen el desarrollo de la enfermedad, que es capaz de destruir en forma rápida la totalidad del follaje. El control de la enfermedad se realiza utilizando fungicidas de contacto como mancozeb y fungicidas sistémicos como dimetomorf o metalaxil. Este último es de acción curativa y de gran efectividad sobre oomicetes, por lo cual, desde su introducción en 1980, ha sido permanentemente utilizado para el control de *P. infestans* en la zona Centro Norte de Chile (Latorre, 1995).

Inicialmente metalaxil fue aplicado solo, a pesar que este fungicida, al igual que otras acilalaninas, actúa sobre sitios muy específicos del patógeno. Esta situación facilitó un rápido desarrollo de resistencia en poblaciones de *P. infestans*. El fenómeno fue detectado a principios de los años 80 en diferentes países de Europa, y posteriormente a comienzos de los años 90 en USA, Canadá, Ecuador y México (Davidse *et al.*, 1981; Drenth *et al.*, 1993; Matuszak *et al.*, 1994; Manríquez, 1995; Power *et al.*, 1995; Forbes *et al.*, 1997).

En la zona Centro Norte de Chile, una severa epifitía de *P. infestans* ocurrida durante el invierno de 1997 en cultivos de papa establecidos en La Serena (IV Región), provocó severos daños económicos, a pesar de los programas de aplicaciones químicas empleados para el control de la enfermedad. Cultivos establecidos en mayo recibieron un total de ocho aplicaciones de fungicidas, mientras que aquellos establecidos en junio y julio recibieron entre 10 y 14 aplicaciones de fungicidas. Un análisis de esos programas de control reveló que durante ese ciclo de cultivo, producciones comerciales de papa establecidas con la variedad Cardinal recibieron un promedio de seis aplicaciones de metalaxil (Ridomil® MZ58 WP) en algunos casos repetidas cada 4 ó 5 días, cinco de mancozeb (Mancozeb 800WP) y entre 1 y 2 de dimetomorf (Acrobat® MZ), sin

embargo, en la mayoría de ellas, *P. infestans* alcanzó un alto grado de severidad.

El fenómeno descrito y el uso histórico del fungicida, sugirió, entre otras causas, una eventual presencia de variantes resistentes del hongo hacia el activo metalaxil. En Chile no existe información publicada sobre la situación actual de sensibilidad o resistencia de la población de *P. infestans* frente a metalaxil. En función de esto, durante las temporadas 1999 y 2000 se condujo un estudio que tuvo por objetivo determinar el grado de sensibilidad *in vitro* a metalaxil de poblaciones de *P. infestans* que afectaban a cultivos de papa establecidos en la IV y V Región de Chile.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colección de aislamientos de *P. infestans*

Los aislamientos de *P. infestans* fueron colectados en cultivos de papa cv. Cardinal afectados por tizón tardío, en siete localidades de la IV Región y tres localidades de la V Región. En la mayoría de los casos estos cultivos habían sido establecidos en áreas donde se realiza monocultivo de papas (Cuadro 1). En cada localidad el muestreo se realizó en cultivos que estaban en plena fase de tuberización, manejados con diferentes programas de aplicaciones fungicidas, y todos ellos habían recibido por lo menos una aplicación de metalaxil para el control de la enfermedad.

La colecta de los aislamientos desde material infectado, se realizó durante las temporadas 1999 y 2000, entre los meses de mayo y agosto, a partir de esporangios individuales obtenidos desde la zona de avance del patógeno en hojas y folíolos de plantas enfermas, previamente mantenidos en cámara húmeda a temperatura ambiente por 24 h, para inducir la formación de esporangios. Los esporangios fueron traspasados a medio de cultivo Agar V8 enriquecido con rifampicina (20 mg L⁻¹), sulfato de polymixina B (50 mg L⁻¹), ampicilina (200 mg L⁻¹) y los fungicidas pentacloronitrobenzoceno (67 mg L⁻¹) y benomilo (100 mg L⁻¹), para posteriormente ser incubados 3 a 4 días en oscuridad a 18°C. Los aislamientos fueron almacenados en tubos de ensayo que contenían 15 mL de agar centeno tipo B (Deahl y Demuth, 1993).

Cuadro 1. Localidades de muestreo en cultivos de papa y número de aislamientos de *Phytophthora infestans* colectados en cada una de ellas durante las temporadas 1999 y 2000 para los estudios de sensibilidad *in vitro* a metalaxil.

Table 1. Sampling locations for potato crops and number of *Phytophthora infestans* isolates collected at each site during 1999 and 2000 seasons to study the *in vitro* sensitivity to metalaxyl.

| | IV Región, Provincia de Elqui | | V Región, Provincia de Petorca | | |
|------------------|-------------------------------|------|--------------------------------|------|----|
| | Temporada | | Temporada | | |
| | 1999 | 2000 | 1999 | 2000 | |
| Pan de Azúcar | 49 | 21 | La Ligua | 18 | 11 |
| San Ramón | 8 | 4 | El Carmen | 21 | 13 |
| Algarrobito | 10 | 5 | Cabildo | 11 | 8 |
| Gabriela Mistral | 8 | 4 | | | |
| Altovalsol | 7 | 3 | | | |
| Coquimbito | 19 | 9 | | | |
| El Romero | 13 | 12 | | | |
| Total | 114 | 58 | | 50 | 32 |

Generalmente se ha utilizado una concentración de 10 mg L⁻¹ de metalaxil para calificar resistencia o sensibilidad de biotipos de *P. infestans* (Shattock, 1988; Deahl y Demuth, 1993). En este estudio, esta concentración fue usada tanto en pruebas *in vivo* como *in vitro*, solo para separar en forma preliminar grupos de aislamientos de *P. infestans* y clasificarlos como sensibles o resistentes al fungicida.

Evaluación *in vitro*

El comportamiento *in vitro* de los aislamientos fue evaluado en una primera etapa de acuerdo a la metodología empleada por Shattock (1988) y Deahl y Demuth (1993). Para esto, cilindros de agar centeno B con micelio obtenido desde el borde de colonias de cada aislamiento de *P. infestans*, previamente mantenidas en estufa de incubación en oscuridad a 18°C por 6 días, fueron establecidos simultáneamente sobre agar centeno B enriquecido con 10 mg L⁻¹ de metalaxil y sobre placas de agar centeno B sin el fungicida (testigo). Como control se utilizó un aislamiento de *P. infestans* colectado en Toltén (IX Región), previamente calificado como sensible a metalaxil.

El crecimiento *in vitro* de cada aislamiento fue medido después de un período de incubación de 6 días a 18°C utilizando la siguiente ecuación:

$$PC = \frac{DMCM - 5 \text{ mm}}{DMCA} \times 100;$$

donde PC = porcentaje de crecimiento; DMCM = diámetro medio colonia creciendo en agar centeno B y 10 mg L⁻¹ de metalaxil; 5 mm = diámetro del cilindro con micelio; y DMCA = diámetro medio colonia creciendo en agar centeno B

El criterio empleado por Shattock *et al.* (1990) y Deahl y Demuth (1993) califica como resistentes a metalaxil a los aislamientos con porcentaje de crecimiento igual o mayor a 60%, intermedios de 10 a 60%, y como sensibles a aquellos con un porcentaje de crecimiento radial menor a 10%.

En una segunda etapa, para cada aislamiento se estimó la concentración media efectiva (CE 50), variable definida como la concentración media de metalaxil necesaria para inhibir el 50% del crecimiento de micelio *in vitro* de cada aislamiento. La CE 50 fue estimada mediante un modelo de regresión lineal entre el logaritmo de seis concentraciones de metalaxil y su porcentaje de inhibición. Para estimar este valor, inicialmente se utilizó un rango de concentraciones que varió entre 0,01 y 100 mg L⁻¹ de metalaxil (Sozzi y Staub, 1987; Manriquez, 1995), sin embargo, ninguno de los aislamientos del patógeno fue inhibido por 100 mg L⁻¹ de metalaxil, determinando la necesidad de utilizar concentraciones de 0, 150, 250, 350, 450 y 550 mg L⁻¹ de metalaxil (Deahl y Demuth, 1993). Por cada aislamiento y concentración de metalaxil se usaron cuatro repeticiones. El porcentaje

de inhibición fue transformado a unidades Probits, mediante la tabla propuesta por Finney (1964).

Evaluación *in vivo*

Para comparar la sensibilidad a metalaxil *in vitro* e *in vivo*, durante la temporada 1999 se realizó un bioensayo inoculando un grupo de ocho aislamientos de *P. infestans*, identificados como A-33, A-35, A-42, A-45, A-48, A-53, A-126 y A-189, sobre folíolos de papa de la variedad Cardinale. Para esto, folíolos axilares de 14 mm de diámetro, obtenidos desde plantas de 30 días de edad que no habían sido tratadas con fungicida, fueron sumergidos y agitados en una solución de 10 mg L⁻¹ de metalaxil durante 5 min, para luego ser mantenidos por 24 h en condiciones de cámara húmeda. El inóculo fue obtenido a partir del lavado con agua destilada estéril de la superficie de colonias individuales de 14 días de edad de los aislamientos del patógeno, desarrolladas en agar centeno B. Para inducir la formación de zoosporas, los esporangios obtenidos por lavado fueron incubados 4°C por 90 min. Cada suspensión fue ajustada con agua destilada estéril a 4 x 10⁴ zoosporas por mL (Goodwin y McGrath 1995). Cumplida esta etapa, 15 folíolos fueron inoculados con 20 mL folíolo⁻¹, de la suspensión de zoosporas de

cada aislamiento, y luego mantenidos a 18°C con fotoperíodo 12:12 (luz:oscuridad) (entre 6000 a 7500 lux), por 7 días. Como testigo se utilizaron folíolos sumergidos y agitados en agua destilada estéril por igual período de tiempo. Como control se utilizó el aislamiento sensible colectado en la IX Región.

Para evaluar la severidad se utilizó una escala de 0 a 5, que representó a 0; de 0,1 a 20; de 20 a 40; de 40 a 60; de 60 a 80; y de 80 a 100% de la superficie del folíolo cubierta por esporangios (Deahl y Demuth, 1993 ; Goodwin y McGrath, 1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en pruebas preliminares *in vitro*, donde se hicieron crecer los aislamientos colectados durante la temporada 1999 en localidades de la IV y V Región, sobre agar centeno B con 10 mg L⁻¹ de metalaxil, demostraron que la totalidad de ellos desarrollaron colonias con porcentajes de crecimiento que oscilaron entre 80 y 100% del crecimiento observado en sus colonias testigos. En este ensayo, el aislamiento control caracterizado como sensible, fue el único totalmente inhibido por 10 mg L⁻¹ de metalaxil (Figura 1).

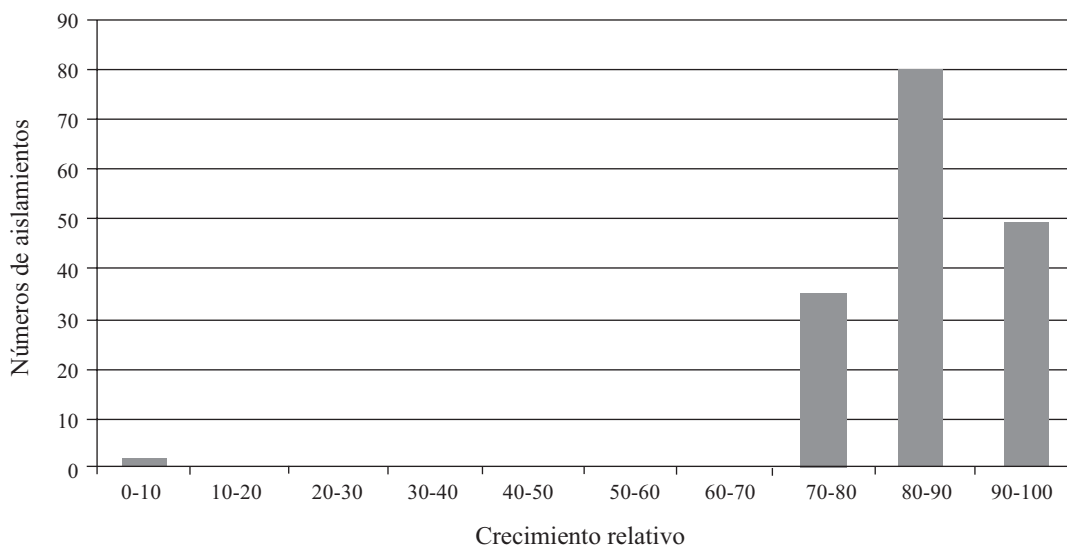


Figura 1. Distribución de frecuencias en función del porcentaje de crecimiento relativo (respecto colonia testigo) de 164 aislamientos de *Phytophthora infestans* sobre agar centeno B y 10 mg L⁻¹ de metalaxil de Regiones IV y V. Temporada 1999.

Figure 1. Frequency distribution as a function of relative growth percentage (over control) of 164 *Phytophthora infestans* isolates, on agar rye B and 10 mg L⁻¹ metalaxyl Regions IV and V. Season 1999.

Los resultados del bioensayo realizado durante 1999 utilizando el control sensible y la muestra de ocho aislamientos de *P. infestans*, revelaron que al ser inoculados artificialmente, todos ellos fueron capaces de colonizar sobre el 80% de la superficie de folíolos de papa variedad Cardinal, que previamente habían sido sumergidos en 10 mg L⁻¹ de metalaxil. En función del porcentaje de tejido colonizado fueron calificados con nota de ataque 5. Un comportamiento diferente fue observado en el control sensible y en el aislamiento A-33 los cuales presentaron notas 0 y 4, respectivamente (Cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentaje de colonización en folíolos de papa variedad Cardinal, sumergidos en 10 mg L⁻¹ metalaxil antes de ser inoculados artificialmente con zoosporas y esporangios de ocho aislamientos de *Phytophthora infestans* colectados durante la temporada 1999 en las regiones IV y V, Chile.

Table 2. Colonization percentage on Cardinal variety potato leaflets dipped into 10 mg L⁻¹ metalaxyl before artificial inoculation with zoospores and sporangias from eight *Phytophthora infestans* isolates, collected during 1999 and 2000 seasons in the IV and V Regions, Chile.

| Aislamientos | Porcentaje de colonización de folíolos | | |
|--------------|--|---------------------------------|-------------------|
| | Agua destilada | 10 mg L ⁻¹ metalaxil | Nota ¹ |
| A-33 | 85,0 | 82,5 | 5 |
| A-35 | 86,2 | 81,3 | 5 |
| A-42 | 95,2 | 90,4 | 5 |
| A-45 | 86,0 | 80,2 | 5 |
| A-48 | 87,6 | 81,9 | 5 |
| A-53 | 96,0 | 89,2 | 5 |
| A-126 | 82,0 | 65,0 | 4 |
| A-189 | 90,0 | 86,0 | 5 |
| Control | 75,4 | 0 | 0 |

¹ 0: 0; 1: 0,1-20; 2: 20-40; 3: 40-60; 4: 60-80; 5: 80-100% de la superficie del folíolo cubierta por esporangios

Bajo las condiciones de este estudio, los resultados demostraron que mientras el aislamiento control presentó una CE 50 de 0,1 mg L⁻¹ de metalaxil, la sensibilidad de los aislamientos colectados en localidades de la IV Región durante 1999 expresada a través de sus CE 50, osciló entre 243 y 687 mg L⁻¹ de metalaxil. La sensibilidad promedio de las localidades presentó una variación entre 377,5

y 519,5 mg L⁻¹ de metalaxil (El Romero y Altovalsol, respectivamente). Durante la temporada 2000, 58 aislamientos de *P. infestans* colectados sobre cultivos de Cardinal, en las mismas localidades de esta región, presentaron una CE 50 entre 260 y 560 mg L⁻¹ de metalaxil.

Para aislamientos colectados en la V Región durante 1999 se estimaron valores de CE 50 que oscilaron entre 233 y 633 mg L⁻¹ de metalaxil. En la temporada siguiente, es decir en el ciclo de crecimiento 2000, los valores de CE 50 oscilaron entre 250 y 587 mg L⁻¹ de metalaxil. En ambas temporadas los aislamientos de *P. infestans* colectados en La Ligua, localidad que históricamente ha concentrado la superficie más importante cultivada con papa en la V Región, presentó la CE 50 promedio más alta (Cuadro 3).

Los resultados demostraron que la totalidad de los aislamientos colectados durante las temporadas 1999 y 2000 fueron resistentes a este fungicida. En ambas temporadas, se obtuvo un rango de variación bastante amplio en la CE 50 estimada para aislamientos dentro de cada localidad, sin embargo, no se consideró relevante agrupar o diferenciar estadísticamente individuos resistentes, toda vez que sus CE 50 fueron por lo menos 200 veces superiores a la CE 50 estimada para el control sensible (Cuadro 4), o para los valores determinados por Power *et al.* (1995) para aislamientos sensibles, los cuales oscilaron entre 0,00002 y 1 mg L⁻¹ de metalaxil.

En ninguna de las localidades estudiadas se obtuvo información relacionada con las pautas de control químico históricamente empleadas en el manejo de la enfermedad. Esta situación no permite analizar alguna tendencia o patrón de sensibilidad en función de la localidad o manejo del patógeno. Sin embargo, una agrupación de los aislamientos de *P. infestans*, en rangos arbitrarios de CE 50, permitió verificar que en los aislamientos colectados en 1999, solamente el 9,6 y 10,1% de la colección estudiada de la IV y V Región respectivamente, presentó una CE 50 no superior a 300 mg L⁻¹ de metalaxil, al mismo tiempo que 74 y 75,2% de los aislamientos de estas dos regiones presentaron CE 50 superior a 350 mg L⁻¹ de

Cuadro 3. Número, concentración efectiva media (CE 50), máximo, mínimo y promedio de aislamientos de *Phytophthora infestans*, colectados durante las temporadas 1999-2000, en cultivos de papa establecidos en siete localidades de la IV Región y en tres localidades de la V Región, Chile.

Table 3. Number, effective concentration (CE 50), maximum, minimum and average of *Phytophthora infestans* isolates, collected during 1999 and 2000 seasons from potato crops established at seven sites in the IV Region and three sites in the V Region, Chile.

| Localidad | CE50 (mg L ⁻¹ metalaxil) | | | | | | | |
|--------------------------------|-------------------------------------|------|------|-------|----------------|------|------|-------|
| | 1999 | | | | 2000 | | | |
| | Nº aislamient. | Máx. | Mín. | Prom. | Nº aislamient. | Máx. | Mín. | Prom. |
| IV Región; prov. Elqui | | | | | | | | |
| Pan de Azúcar | 49 | 577 | 243 | 401,0 | 21 | 427 | 290 | 427,2 |
| San Ramón | 8 | 544 | 351 | 430,7 | 4 | 525 | 320 | 462,1 |
| Algarrobito | 10 | 480 | 290 | 395,4 | 5 | 478 | 280 | 342,3 |
| Gabriela Mistral | 8 | 583 | 353 | 450,9 | 4 | 490 | 365 | 455,2 |
| Altovalsol | 7 | 687 | 369 | 519,5 | 3 | 549 | 354 | 439,5 |
| Coquimbito | 19 | 567 | 245 | 418,0 | 9 | 480 | 260 | 397,2 |
| El Romero | 13 | 584 | 279 | 377,5 | 12 | 560 | 287 | 338,2 |
| Total | 114 | | | | 58 | | | |
| V Región; prov. Petorca | | | | | | | | |
| La Ligua | 18 | 632 | 293 | 445,4 | 11 | 587 | 287 | 478,3 |
| El Carmen | 21 | 466 | 233 | 364,7 | 13 | 401 | 250 | 376,1 |
| Cabildo | 11 | 571 | 254 | 384,1 | 8 | 540 | 270 | 398,2 |
| Total | 50 | | | | 32 | | | |

Cuadro 4. Agrupación en rangos arbitrarios de valores de concentración efectiva media (CE50) (mg L⁻¹ metalaxil) obtenidos en aislamientos de *Phytophthora infestans*, colectados durante las temporadas 1999 y 2000, desde cultivo de papa de siete localidades de la IV Región y en tres localidades de la V Región, Chile.

Table 4. Arbitrary range groupings of CE50 (effective concentration) (mg L⁻¹ metalaxil) values obtained from *Phytophthora infestans* isolates collected during the 1999 and 2000 seasons from potato crops at seven sites in Region IV and three sites in Region V, Chile.

| CE50 (mg L ⁻¹ metalaxil) | IV Región, provincia de Elqui | | | | V Región, provincia de Petorca | | | |
|--|-------------------------------|-------|------|------|--------------------------------|------|------|-------|
| | 1999 | | 2000 | | 1999 | | 2000 | |
| | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % |
| 230 – 250 | 4 | 3,5 | 2 | 3,4 | 1 | 2,0 | 1 | 3,1 |
| 250 – 300 | 7 | 6,1 | 2 | 3,4 | 4 | 8,1 | 2 | 6,2 |
| 300 – 350 | 18 | 15,8 | 2 | 3,4 | 7 | 14,3 | 4 | 12,5 |
| 350 – 400 | 23 | 20,2 | 28 | 48,3 | 21 | 42,8 | 10 | 31,2 |
| 400 – 450 | 20 | 17,5 | 11 | 18,9 | 5 | 10,2 | 8 | 25,0 |
| 450 – 500 | 21 | 18,4 | 6 | 10,3 | 4 | 8,2 | 4 | 12,5 |
| > 500 | 21 | 18,5 | 7 | 12,1 | 7 | 14,3 | 3 | 9,4 |
| Total | 114 | 100,0 | 58 | 99,9 | 49 | 99,9 | 32 | 100,0 |

metalaxil. Similar agrupación realizada para aislamientos de *P. infestans* colectados durante la temporada 2000 en las mismas localidades de la IV y V Región determinó que 6,8 y 9,3% de los aislamientos, respectivamente, alcanzaron CE 50 no superior a 300 mg L⁻¹ de metalaxil, al mismo

tiempo que para 89,6 y 78,1% de ellos, respectivamente, se determinó una CE 50 superior a 350 mg L⁻¹ de metalaxil.

El crecimiento experimentado por el control sensible sobre medio de cultivo y su esporulación

sobre folíolos del cv. Cardinale que no habían sido expuestos a metalaxil, descarta la posibilidad de atribuir los resultados obtenidos a los procedimientos metodológicos o materiales de cultivo empleados en el estudio. La recolección de aislamientos en estados de crecimiento anteriores a la fase de tuberización, probablemente habrían permitido detectar aislamientos sensibles dentro de las colecciones estudiadas. Sin embargo, frecuencias similares de aislamientos resistentes han sido documentadas en estudios donde se asoció el carácter de resistencia a metalaxil con fallas en el control de *P. infestans* (Davidse *et al.*, 1983, 1989; Dowley y O'Sullivan 1985; Papas, 1985; Shattock *et al.*, 1990).

En algunos casos, la sola demostración de resistencia *in vitro* puede tener un significado muy limitado, toda vez que la resistencia en tejidos de la planta, como por ejemplo discos de tubérculos, no ha mostrado buena correlación con resultados obtenidos en agar centeno B (Straub *et al.*, 1979; Bruin y Edginton 1981; Crute, 1987). Sin embargo, gran parte de las investigaciones que han utilizado folíolos o discos de hojas para verificar resistencia a metalaxil, han generado resultados que tienen alta correlación con aquellos obtenidos *in vitro* (Walker y Cooke, 1988; Shattock *et al.*, 1990; Sozzi *et al.*, 1992). En el presente trabajo, ocho de los aislamientos de *P. infestans* colectados durante la temporada 1999 demostraron una gran capacidad de esporulación sobre folíolos del cv. Cardinal tratados con 10 mg L⁻¹ de metalaxil. Este mismo grupo de individuos presentó colonias con un desarrollo similar a sus testigos, cuando fueron establecidos sobre agar centeno B que contenía 10 mg L⁻¹ de metalaxil. En ambos casos fueron calificados como resistentes de acuerdo con los criterios establecidos por Deahl y Demuth (1993).

La alta severidad alcanzada por *P. infestans* y el bajo nivel de control ejercido por la mayoría de los programas que incluyeron metalaxil durante la temporada 1997 en la IV Región de Chile, sugirió la necesidad de evaluar el grado de sensibilidad que presentaba la población del patógeno a este fungicida. Resultados obtenidos durante los ciclos de cultivo 1999 y 2000 permiten establecer por primera vez que poblaciones de *P. infestans* presentes en la IV y V Región de Chile, que estuvieron expuestas a numerosas aplicaciones de metalaxil durante cada temporada estaban formadas en su totalidad por aislamientos resistentes a este fungicida. Durante las dos temporadas que incluyó el estudio, los aislamientos presentaron un alto nivel de resistencia *in vitro* (CE 50 > 233 mg L⁻¹ de metalaxil) comparables con los reportados por Sozzi y Staub (1987) y por Walker y Cooke (1988).

En la IV y V Región de Chile, durante su primera etapa de uso, el metalaxil fue aplicado solo, ejerciendo probablemente una alta presión de selección contra la población natural, formada predominantemente por aislamientos sensibles al fungicida (Goodwin *et al.*, 1992). Autores como Cohen y Reuveni (1983), Holmes y Channon (1984) y Kadish y Cohen (1988), sugirieron que los aislamientos resistentes estaban presentes en muy baja frecuencia en las poblaciones naturales de *P. infestans*.

El presente estudio no detectó aislamientos sensibles en ninguna de las dos temporadas, probablemente esto se debió a las aplicaciones del fungicida previo a la obtención de las muestras, o, en función del sistema de monocultivo en que se establece la especie *S. tuberosum* en ambas regiones, lo cual podría facilitar la mantención permanente de una población del patógeno dominada completamente por individuos resistentes.

LITERATURA CITADA

- Bruin, G.C.A., and L.V. Edginton. 1981. Adaptive resistance in *peronosporales* to metalaxyl. *Can. J. Plant Pathol.* 3:201–206.
- Cohen, Y., and M. Reuveni. 1983. Occurrence of metalaxyl resistant isolates of *Phytophthora infestans* in potato field in Israel. *Phytopathology* 73:925–927.
- Crute, I.R. 1987. The occurrence, characteristic, distribution, genetic and control of metalaxyl resistant pathotype of *Bremia lactucae* in the United Kingdom. *Plant Dis.* 71:763–767.

- Davidse, L.C., D. Looijen, L.J. Turkesnteen, and D. Van Der Wal. 1981. Occurrence of metalaxyl resistant strains of *Phytophthora infestans* in Dutch potato field. *Neth. J. Plant Pathol.* 87:65–68.
- Davidse, L.C., D.L. Daniel, and C.L. Van Westen. 1983. Resistance to metalaxyl in *Phytophthora infestans* in the Netherlands. *Neth. J. Plant Pathol.* 89:1–20.
- Davidse, L.C., J. Henken, A. Van Dalen, A.B.K. Jesper, and B.C. Mantel. 1989. Nine years of practical experience with phenylamide resistance in *Phytophthora infestans* in the Netherlands. *Neth. J. Plant Pathol.* 95:197–213.
- Deahl, K.L., and S.P. Demuth,. 1993. Testing for resistance to metalaxyl in *Phytophthora infestans* isolates from Northwest Washington. *Am. Potato J.* 70: 779–795.
- Dowley, L.J., and E. O’Sullivan. 1985. Monitoring metalaxyl resistance in population of *Phytophthora infestans*. *Potato Res.* 28:531–534.
- Drenth, A., S.B. Goodwin, W.E. Fry, and L.C. Davidse. 1993. Genotypic diversity of *Phytophthora infestans* in the Netherlands revealed by DNA polymorphism. *Phytopathology* 83:1087–1092.
- Forbes, G.A., X.C. Escobar, C.C. Ayala, J. Revelo, M.E. Ordoñez, B.A. Fry, K. Dovccett, and W.E Fry. 1997. Population genetic structure of *Phytophthora infestans* in Ecuador. *Phytopathology* 87:375–380.
- Goodwin, S.B., L.J. Spielman, J.M. Matuszak, S.N. Bergeron, and W.E. Fry. 1992. Clonal diversity and genetic differentiation of *Phytophthora infestans* population in Northern and Central Mexico. *Phytopathology* 82:955–961.
- Goodwin, S.B., and M.T. McGrath. 1995. Insensitivity to metalaxyl among isolates of *Phytophthora erythroseptica* causing pink rot of potato in New York. *Plant Dis.* 79:967.
- Holmes, S.J., and A.G. Channon. 1984. Studies on metalaxyl resistant *Phytophthora infestans* in potato crop in South -West Scotland. *Plant Pathol.* 33:347–354.
- Kadish, D., and Y. Cohen. 1988. Estimation of metalaxyl resistance in *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 78:916–919.
- Latorre, G.B. 1995. Enfermedades de las plantas cultivadas. 628 p. Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
- Manriquez, R. 1995. Resistance of *Phytophthora infestans* strain to phenylamides in Spain. In *Phytophthora infestans 1985-1995/European Association for Potato Research*. Boole Press Ltd., Dublin, Ireland.
- Matuszak, J.M., J. Fernandez-Elquezabal, W.K. Gu, M. Villarreal-González, and W.E Fry. 1994. Sensitivity of *Phytophthora infestans* populations to metalaxyl in Mexico. Distribution and dynamics. *Plant Dis.* 78:911–916.
- Papas, A.C. 1985. Metalaxyl resistance in *Phytophthora infestans* on greenhouse tomatoes in Greece. *Plant Pathol.* 34:293–296.
- Power, R.J., R.A. Hamlen, and L.A. Morehart. 1995. Variation in sensitivity of *Phytophthora infestans* field isolates to cimoxanil, chlorothalonil and metalaxyl. p 154–159. In *European Association for Potato Research. Phytophthora infestans. 1845–1995*. Boole Press Ltd., Dublin, Ireland.
- Shattock, R.C. 1988. Studies on the inheritance o resistance to metalaxyl in *Phytophthora infestans*. *Plant Pathol.* 37:4-11.
- Shattock, R.C., D.S. Shaw, A.M. Fyte, J.R. Dunn, K.H. Loney, and J.A. Shattock, 1990. Phenotypes of *Phytophthora infestans* collected in England and Wales from 1985 to 1988: mating type, response to metalaxyl and isoenzyme analysis. *Plant Pathol.* 39: 242–248.
- Sozzi, D., F.J. Schwinn, and V. Gisi. 1992. Determination of the sensitivity of *Phytophthora infestans* to phenylamides a leaf disc method. *EPPO Bulletin* 22. p. 306–309.
- Sozzi, D., and T. Staub, 1987. Accuracy of methods to monitor sensitivity of *Phytophthora infestans* to phenylamide fungicides. *Plant.Dis.* 71:422–425.
- Straub, T., H. Dahmen, P. Urech, and F.Schwinn. 1979. Failure to select for *in vivo* resistance in *Phytophthora infestans* to acylalanine fungicides. *Plant Dis. Rep.* 63:385–389.
- Walker, A.S.L., and L.R. Cooke. 1990. The survival of *Phytophthora infestans* in potato tubers. The influence of phenylamide resistance. Brighton Crop Protection Conference Pests and Diseases. November 19-22, 1990. British Crop Protection Council. Vol. 3 p.:1109–1114.