



**ATN/RF 16678 Alerta temprana para el manejo del  
Tizón tardío de la papa  
Producto 18. Instructivo para toma de muestras  
Florencia Lucca  
2021**



Códigos JEL: Q16

ISBN:

FONTAGRO (Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria) es un mecanismo único de cooperación técnica entre países de América Latina, el Caribe y España, que promueve la competitividad y la seguridad alimentaria. Las opiniones expresadas en esta publicación son de los autores y no necesariamente reflejan el punto de vista del Banco Interamericano de Desarrollo (BID), del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), FONTAGRO, de sus Directorios Ejecutivos ni de los países que representan.

El presente documento ha sido preparado por Florencia Lucca

Copyright © 2022 Banco Interamericano de Desarrollo. Esta obra se encuentra sujeta a una licencia Creative Commons IGO 3.0 Reconocimiento-NoComercial- SinObrasDerivadas (CC-IGO 3.0 BY-NC-ND) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/igo/legalcode>) y puede ser reproducida para cualquier uso no comercial otorgando el reconocimiento respectivo al BID. No se permiten obras derivadas. Cualquier disputa relacionada con el uso de las obras del BID que no pueda resolverse amistosamente se someterá a arbitraje de conformidad con las reglas de la CNUDMI (UNCITRAL). El uso del nombre del BID para cualquier fin distinto al reconocimiento respectivo y el uso del logotipo del BID no están autorizados por esta licencia CC-IGO y requieren de un acuerdo de licencia adicional. Note que el enlace URL incluye términos y condiciones adicionales de esta licencia.

Esta publicación puede solicitarse a:

**FONTAGRO**

Correo electrónico: [fontagro@fontagro.org](mailto:fontagro@fontagro.org)

[www.fontagro.org](http://www.fontagro.org)



# Tabla de Contenidos

## Contenido

Resumen .....	4
Palabras Clave.....	4
Introducción.....	5
Referencias Bibliográficas.....	10
Instituciones participantes .....	12
ANEXO. PROTOCOLO PARA TOMA DE MUESTRAS CON TARJETAS FTA.....	13
ANEXO. FORMULARIO DE MUESTRAS DE <i>P. infestans</i> UTILIZANDO TARJETAS FTA ....	14
ANEXO: MEMORIA TALLER TOMA DE MUESTRAS Y CARACTERIZACIÓN DLE AGENTE CAUSAL .....	15

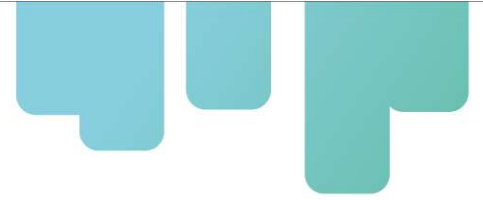


## Resumen

El tizón tardío de la papa, causado por el oomicete *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, es la enfermedad más importante en América Latina y en el mundo, que causa grandes pérdidas productivas y afecta la seguridad alimentaria. El centro de origen de la papa y de *P. infestans* es América Latina, donde el patógeno co-evolucionó con una gran diversidad de especies de Solanáceas. Realizar un correcto monitoreo de las poblaciones del patógeno nos permite conocer la estructura de las poblaciones de *P. infestans* presentes cada zona productora de papa, información clave para determinar la variación genética poblacional dentro y entre poblaciones. También permite identificar las adaptaciones en las poblaciones, permitiendo detectar nuevos genotipos más virulentos o resistentes a fungicidas. Esta información puede ser empleada directamente para adaptar o modificar estrategias de control, acoplando la epidemiología a la toma de decisiones. En el marco del Proyecto Fontagro ATN/RF 16678 de Alerta temprana para el manejo del Tizón tardío de la papa, conjuntamente con las iniciativas de la Red Latinoamericana de tizón, Tizón Latino nos propusimos como objetivo monitorear la diversidad genética del patógeno presente en la actualidad en lotes de producción de papa de Latinoamérica. Para tal fin se se adaptó un protocolo para la toma de muestras de *P. infestans* a campo utilizando tarjetas de muestreo FTA (Whatman), que simplifique el aislamiento, la purificación y el almacenamiento de ADN genómico para estudios genómicos globales de las poblaciones del patógeno

### Palabras Clave

Diversidad genética poblacional, tizón tardío, papa, tarjetas FTA, Latinoamérica, *Phytophthora infestans*



## Introducción

Las poblaciones de *P. infestans* en todo el mundo están en proceso de cambio, siendo éstos muy rápidos y repentinos a través de la emergencia y migración sucesiva de líneas clonales. (Forbes, 2015; Acuña et al., 2015; Nielsen et al., 2014; Danies et al., 2014; Chowdappa et al., 2015). La inestabilidad genética de las poblaciones de *P. infestans* hace difícil su control. Asimismo, la dispersión de nuevos genotipos se ve favorecida por la creciente globalización del comercio y el cambio climático. Las estrategias de manejo deben adaptarse a la cambiante población. Los marcadores moleculares permiten documentar estos cambios, complementados con estudios de agresividad de los genotipos, genes efectores, sensibilidad a fungicidas.

En 2013 se describió un conjunto estandarizado de 12 loci desarrollado como un ensayo de PCR multiplexado en el que los 12 loci pueden amplificarse en una sola reacción (Li et al., 2013) y es aplicable para ADN de patógeno puro o ADN mixto de huésped y patógeno en tarjetas FTA.

En este contexto y con el objetivo de i) monitorear la diversidad genética del patógeno presente en la actualidad en lotes de producción de papa de Latinoamérica, se adaptó un protocolo para la toma de muestras de *P. infestans* a campo utilizando tarjetas de muestreo FTA (Whatman), que simplifique el aislamiento, la purificación y el almacenamiento de ADN genómico para estudios genómicos globales de las poblaciones del patógeno

El monitoreo continuo de las poblaciones de *P. infestans* (vigilancia epidemiológica) empleando las tarjetas FTA y los estudios de genotipificación posteriores que realizarán en base a estas muestras es crucial para identificar cambios en la población del patógeno. Contar con información actualizada de las mismas y comprender su dinámica poblacional, permitirá avanzar en estudios complementarios como, por ejemplo, de sensibilidad a fungicidas (Schepers et al., 2018), que permitan asistir al productor en la selección del fungicida más adecuado para el control del tizón tardío, acoplando la epidemiología a la toma de decisiones, en pos de un uso sostenible de productos fitosanitarios.

La dinámica de las poblaciones de *P. infestans* en Latinoamérica y en otras regiones productoras de papa ponen en evidencia la necesidad de extremar las medidas de control sanitario para evitar



posibles ingresos de tubérculos de papas contaminados con nuevos linajes de *P. infestans*.

Estudiar las poblaciones de manera conjunta y no aisladamente, permitirá conocer como es la evolución del patógeno y poder así trabajar mancomunadamente en estrategias de mitigación de la enfermedad más eficientes y sostenibles.

### ***Toma de muestras de P. infestans a campo utilizando tarjetas de muestreo FTA (Whatman)***

Las tarjetas de muestreo FTA (Flinders Technology Associates, Whatman® Internacional Ltd., Reino Unido) contienen productos químicos en su composición que lisan las células, desnaturalizan las proteínas y protegen a los ácidos nucleicos de las nucleasas, la oxidación y los daños causados por radiación UV. La tarjeta de muestro FTA comercial es dividida en dos (Figura 1) de forma de contar con dos círculos de muestreo (1 y 2) por aislamiento, a fin de tener dos copias de cada aislamiento de *P. infestans*.

Se muestrean hojas (o eventualmente tallos) que presentaron lesiones frescas y bien esporuladas del patógeno. Sobre cada área de muestreo (círculo delimitado) se imprime la lesión (haciendo coincidir la cara abaxial de la hoja de papa sobre la tarjeta), ejerciendo presión para que la lesión se adhiera a la matriz de papel de la tarjeta. La muestra impresa sobre la tarjeta FTA se debe secar al aire durante una noche. Cada tarjeta tiene un número de seguimiento para facilitar su trazabilidad (indicado sobre la tarjeta). Las tarjetas FTA van acompañadas de un formulario de muestreo anexo donde se consigna la información relevante de la muestra para el análisis posterior de las poblaciones de *P. infestans* tales como: fecha de muestreo, datos de contacto de quien tomó la muestra, geo-referencias del lote muestreado (para realizar un mapa poblacional de *P. infestans*), etc. De contarse con la información de las aplicaciones químicas previas, se incluyen en formulario que puedan ser de utilidad para estudios de sensibilidad a fungicidas.

En el **Anexo** se adjuntan: i) **Protocolo de muestreo utilizando tarjetas FTA**, version 1.2., enero 2021, autores: Guido M. Cabarrou y Florencia Lucca y ii) **Formulario de muestreo de *Phytophthora infestans* utilizando tarjetas FTA**, version 1.2, enero 2021, autores: Guido M. Cabarrou y Florencia Lucca.



Asimismo, un video de la metodología esta disponible en el siguiente link:

<https://youtu.be/megn7uohtww>

Los aislamientos de *P. infestans* contenidos en las tarjetas FTA pueden ser trasladados entre regiones productoras de papa sin inducir ningún riesgo biológico, especialmente durante el envío. Las muestras contenidas en las tarjetas FTA se inactivan rápidamente debido a los productos químicos que lisan las células, desnaturalizan las proteínas y protegen los ácidos nucleicos de las nucleasas, la oxidación y los daños causados por radiación UV.

Aun así, para el envío de muestras hacia el Laboratorio de Micología y Bacteriología de la EEA INTA Balcarce desde el exterior se debe gestionar una solicitud de importación o exportación (según corresponda) a través del Área de Bioseguridad Agroambiental del Senasa, junto al permiso de importación o exportación del país de origen y/o destino. Adicionalmente el ingreso de las muestras al país debe gestionarse mediante un trámite de importación aduanera (Dirección de Información Estratégica Fitosanitaria DNPV- Senasa, comunicación personal). Consultar con la responsable del servicio de Genotipificación, Dra. Florencia Lucca antes del envío para cumplimentar con anticipación los debidos permisos: [lucca.florencia@inta.gov.ar](mailto:lucca.florencia@inta.gov.ar).

### **Resultados**

El protocolo de muestreo del patógeno con tarjetas FTA fue adaptado con éxito y resulta una herramienta valiosa para los estudios genómicos de poblaciones de *P. infestans* en Latinoamérica, donde las zonas productoras de papa se distribuyen a lo largo de un amplio territorio. El contar con este protocolo de muestreo tan eficaz para conservar estable el material genético, significa un recurso valiosísimo para muestrear varias zonas de producción y así aumentar la cantidad de aislamientos a estudiar. Sumado a la dificultad de no contar con laboratorios especializados en las zonas de producción de papa que puedan obtener aislamientos de *P. infestans* de los tejidos afectados para ser incluidos en los estudios genómicos. Entre las ventajas del uso de las tarjetas FTA se encuentra que una vez depositada la muestra en la tarjeta esta rápidamente inactivan





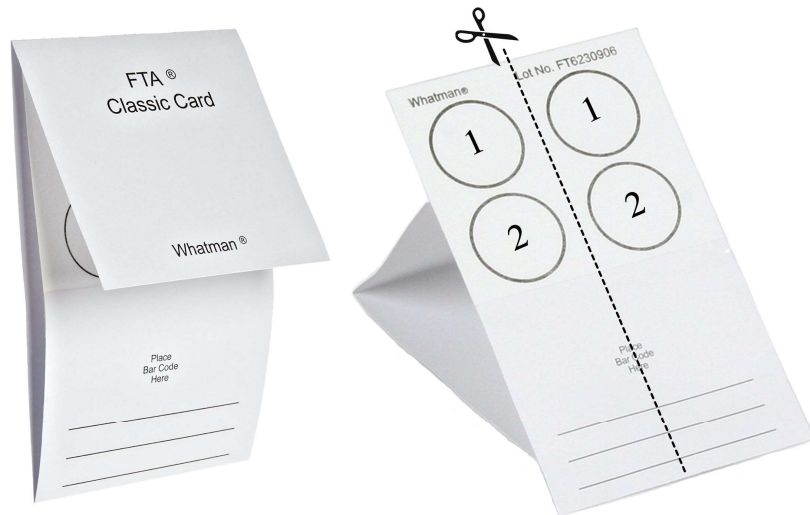
organismos e impiden el crecimiento de bacterias y otros microorganismos (Smith y Burgoyne, 2004), manteniendo el ADN de la muestra estable en el largo plazo a temperatura ambiente facilitando su almacenamiento (Cardona-Ospina *et al.*, 2019).

El protocolo adaptado en este trabajo será empleado como referencia para la toma de muestras en la Red Latinoamericana Tizón Latino. Esta metodología para la toma de muestras fue presentada y compartida entre investigadores, asesores y productores que participaron del Primer taller de trabajo de la Propuesta FONTAGRO ATN/RF 16678-RG realizada marzo de 2019 en Chiloé, Chile, en el marco de una capacitación sobre la caracterización del agente causal (<http://webstories.fontagro.org/alerta-temprana-tizon-tardio-latinamerica>) (Ver Anexo Memoria taller: Toma de muestras y caracterización agente causal).

El protocolo de muestreo con tarjetas FTA demostró ser rápido, rentable y efectivo para realizar estudios genotípicos a partir de muestras mixtas de ADN del huésped y del patógeno contenido en tarjetas FTA. Su implementación fue fácil. La efectividad del método pudo ser comprobada tanto en la toma de la muestra como en su conservación. El éxito del muestreo radicó en la identificación correcta de las lesiones debidas al tizón, que resultaron en amplificaciones moleculares exitosas. No se observaron contaminaciones ni interferencias que afectaran la reacción de amplificación molecular posterior.

El protocolo de muestreo de *Phytophthora infestans* en el campo con tarjetas FTA, así como el formulario anexo (adjuntos a esta nota técnica) estarán próximamente disponibles en el sitio web de la Red Tizón Latino (<https://tizonlatino.github.io/>) para productores, asesores e investigadores de Latinoamérica para un monitoreo estandarizado, coordinado y continuo de este patógeno.





**Figura 1.** Sistema de muestreo en tarjetas FTA utilizado para la colección, transporte y conservación de hojas de papa con lesiones de *P. infestans*. La tarjeta FTA original se subdivide a la mitad, quedando dos zonas de muestreo (1 y 2) por muestra de *P. infestans* colectada.



**Figura 2.** Lesiones frescas producidas por *P. infestans* a) manchas de color marrón claro a oscuro b) bajo condiciones de alta humedad relativa, se forman la esporulación del patógeno en el envés de las hojas c) impresión de la lesión haciendo coincidir la cara abaxial de la hoja de papa sobre la tarjeta FTA. Autor. Florencia Lucca

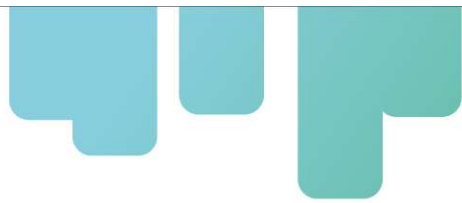


## Referencias Bibliográficas

- Acuña, I.; Restrepo, S., Loyosa, H.; Gabriel, J.; Mora, R. (2015). "Tizón Latino: A Latin American network for the study of Solanaceae Blight Diseases." In: *Proceedings of the Fifteenth Euroblight Workshop*. PPO-Special Report no 17. pp. 249-250.
- Cardona-Ospina, J. A., Villalba-Miranda, M. F., Palechor-Ocampo, L. A., Mancilla, L. I.; Sepulveda-Arias, J. C. (2019). "A systematic review of FTA cards® as a tool for viral RNA preservation in fieldwork: Are they safe and effective?". *Preventive veterinary medicine*, 172, 104772.
- Chowdappa, P., Kumar, N.B.J., Madhura, S., Kumar, M.S.P., Myers, K.L., Fry, W.E., Cooke, D.E.L. (2015). "Recent changes in the *Phytophthora infestans* population led to severe outbreaks of late blight on potato and tomato in South India" *Plant Pathology* 64.:191-199.
- Danies, G., Myers, K., Mideros, M.F., Restrepo, S., Martin, F.N., Cooke, D.E.L., Smart, C.D., Banks, E., Ristaino, J.B., Seaman, A.J., Gugino, B.K., Grünwald, N.J., Fry, W.E. (2014). "An ephemeral sexual population of *Phytophthora infestans* in the northeastern United States and Canada" *PLoS ONE* 9(12) doi: 10.1371/journal.pone.0116354
- Forbes, G.A. (2015). "Recent developments concerning the population biology and control strategies of *Phytophthora infestans* in Asia and Africa". In: *Proceedings of the Fifteenth Euroblight Workshop*. PPO-Special Report no 17. pp. 51-56.
- Li, Y., Cooke, D. E., Jacobsen, E., & van der Lee, T. (2013). "Efficient multiplex simple sequence repeats genotyping of the oomycete plant pathogen *Phytophthora infestans*" *Journal of microbiological methods*, 92(3): 316-322.
- Nielsen, B. J., Cooke, D. E., Hansen, J. G., & Schepers, H. T. A. M. (2014)." Monitoring the Danish population of potato late blight pathogen, *Phytophthora infestans* in 2011-2012 and occurrence of 13\_A2." In: *Proceedings of the Fourteenth EuroBlight Workshop*. Special Report no 16. pp. 159-162.
- Schepers, H.T.A.M., Kessel, G.J.T., Lucca, F. et al. (2018). "Reduced efficacy of fluazinam against *Phytophthora infestans* in the Netherlands" *Eur J Plant Pathology* 151, 947–960  
<https://doi.org/10.1007/s10658-018-1430-y>



Smith, L. M., Burgoyne, L. A. (2004). "Collecting, archiving and processing DNA from wildlife samples using FTA<sup>®</sup> databasing paper". *BMC ecology*, 4(1): 4.



## Instituciones participantes





**ANEXO. PROTOCOLO PARA TOMA DE MUESTRAS CON TARJETAS FTA.**

Título: Protocolo de muestreo utilizando tarjetas FTA

Version 1.2. Enero 2021

Autores. Guido M. Cabarro y Florencia Lucca.

### **Protocolo de muestreo utilizando tarjetas FTA**

La experiencia ha demostrado que el muestreo es el proceso más crítico y que de él dependerá el éxito en los análisis posteriores de las muestras y los resultados obtenidos. Por favor siga las indicaciones que se muestran más abajo.

#### **Consideraciones previas a la toma de muestras**

- 1) Usar 1 tarjeta por área muestreada en el lote (áreas de muestreo 1 y 2).
- 2) Muestrear dos lesiones por tarjeta, una lesión por cada círculo de muestreo.

**Precaución:** Seleccione un área fresca, de esporulación reciente y corte una muestra de 1 ó 2 cm<sup>2</sup> de la zona indicada (círculo de la foto identifica el área de muestreo recomendada). Tomar preferentemente dos lesiones de cada hoja (folíolos) procedentes de la misma hoja.

**Evitar:** muestrear hojas con lesiones viejas o secas. Hojas mojadas o empapadas en agua pueden contaminar la muestra con bacterias.



Lesiones producidas por *P. infestans* en la cara abaxial de una hoja de papa. Autor. Florencia Lucca

### **Toma de muestras**

- 1) Para evitar contaminar el área de muestreo de la tarjeta, poner en contacto sólo el folíolo que presenta la lesión con tizón. No sobrepasar el área de muestreo.
- 2) Etiquete la tarjeta FTA con un número de referencia. El número de referencia puede estar dado en la tarjeta o usted puede generar uno nuevo.

### **Toma de datos**

- 1) Imprima y complete los campos solicitados en el formulario de muestreo (ver documento adjunto). Complete un formulario por tarjeta indicando con claridad el número de referencia.

**Importante: el número de la tarjeta de muestreo debe estar consignado en el formulario de muestreo anexo, para hacer la trazabilidad de las muestras.**

### **Conservación de la muestra**

- 1) Para conservar la integridad de la muestra, dejar secar la tarjeta al aire (abierta), previo a guardarla y remitirla a destino.

### **Envío de la muestra**

- 1) Envíe la tarjeta a destino e incluya el formulario de muestreo. Ponga la tarjeta en una bolsa de plástico con cierre hermético para evitar que durante el transporte pueda humedecerse y contaminarse.

Póngase en contacto con el **Laboratorio de Micología y Bacteriología de la EEA INTA Balcarce** para más detalles referidos al muestreo y/o envío de las tarjetas al: **+54 2266 439100** interno **283** o envíe un **e-mail** a su responsable: **lucca.florencia@inta.gob.ar**





**ANEXO. FORMULARIO DE MUESTRAS DE *P. infestans* UTILIZANDO  
TARJETAS FTA**

Título: Formulario de muestreo de *Phytophthora infestans* utilizando tarjetas FTA

Version 1.2. Enero 2021

Autores. Guido M. Cabarro y Florencia Lucca.



### CAMPOS OBLIGATORIOS

Número de referencia de la tarjeta FTA  
(usar el mismo asignado a la tarjeta o generar uno)

Nombre de muestreador / e-mail

País

Ciudad

Código postal

Coordenadas GPS (decimal)

Coordenadas GPS (grad, min, seg)

Origen: campo de producción/ensayo

Fecha de muestreo

Hospedante (papa/tomate/otro)

Cultivar/variedad

Notas/observaciones

Presión de la enfermedad


### OPCIONAL - Fungicidas

Desempeño del producto	Bueno / Medio / Débil		
	Fecha de aplicación	Tipo de acción biológica Preventivo / curativo / erradicante	Dosis Kg-cc-gr-Lt/ha
Ingrediente activo o nombre del producto utilizado			

Póngase en contacto con el **Laboratorio de Micología y Bacteriología de la EEA INTA Balcarce** para más detalles referidos al muestreo y/o envío de las tarjetas al: **+54 2266 439100** interno **283** o envíe un **e-mail** a su responsable: [lucca.florencia@inta.gob.ar](mailto:lucca.florencia@inta.gob.ar)



**ANEXO: MEMORIA TALLER TOMA DE MUESTRAS Y CARACTERIZACIÓN  
DLE AGENTE CAUSAL**



**TALLER:  
TOMA DE MUESTRAS Y CARACTERIZACIÓN DEL  
AGENTE CAUSAL. 20-21 MARZO 2019, CHILOÉ-CHILE.**

**Florencia Lucca**

**2019**



Códigos JEL: Q16

FONTAGRO (Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria) es un programa de cooperación administrado por el Banco Interamericano de Desarrollo (BID), pero con su propia membresía, estructura de gobernabilidad y activos. Las opiniones expresadas en esta publicación son de los autores y no necesariamente reflejan el punto de vista del Banco Interamericano de Desarrollo, FONTAGRO, de sus Directorios Ejecutivos ni de los países que representan.

El presente documento ha sido preparado por Florencia Lucca e Ivette Acuña

Copyright © 2022 Banco Interamericano de Desarrollo. Esta obra se encuentra sujeta a una licencia Creative Commons IGO 3.0 Reconocimiento-NoComercial- SinObrasDerivadas (CC-IGO 3.0 BY-NC-ND) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/igo/legalcode>) y puede ser reproducida para cualquier uso no comercial otorgando el reconocimiento respectivo al BID. No se permiten obras derivadas. Cualquier disputa relacionada con el uso de las obras del BID que no pueda resolverse amistosamente se someterá a arbitraje de conformidad con las reglas de la CNUDMI (UNCITRAL). El uso del nombre del BID para cualquier fin distinto al reconocimiento respectivo y el uso del logotipo del BID no están autorizados por esta licencia CC-IGO y requieren de un acuerdo de licencia adicional. Note que el enlace URL incluye términos y condiciones adicionales de esta licencia.

Esta publicación puede solicitarse a:

**FONTAGRO**

Correo electrónico: [fontagro@fontagro.org](mailto:fontagro@fontagro.org)

[www.fontagro.org](http://www.fontagro.org)



---



## Indice de Contenido

Agradecimientos .....	4
Introducción.....	6
Antecedentes.....	7
Presentación 1. Monitoreo y caracterización genotípica de poblaciones de <i>Phytophthora infestans</i> .....	12
Lecciones aprendidas .....	15
Conclusiones .....	16
Referencias .....	17
Imágenes.....	19
Biografías de los participantes .....	21

---

## **Agradecimientos**

Esta capacitación fue organizada por INIA Chile en el marco del Taller de la Plataforma Fontagro, realizado en Chiloé (Chile) y con apoyo del INTA Argentina y en particular del Centro Buenos Aires Sur (Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce). Tras la capacitación teórica, tomamos muestras a campo en la salida programada a campos de productores en Chiloé. Los investigadores y técnicos de esta plataforma Fontagro, así como los productores locales recibieron esta capacitación con el fin de contribuir en la mejora de la producción de papa y en particular del manejo del tizón tardío de la papa en Latinoamérica.



---

## Instituciones participantes



---

## Introducción

El tizón tardío, causado por *Phytophthora infestans*, sigue siendo la principal amenaza para los cultivos de papa en todo el mundo, y la razón principal para el uso de fungicidas. El oomicete *P. infestans* fue descrito por primera vez por Anton de Bary (de Bary, 1876; Brasier, 2009; Kroon et al., 2012) y fue el patógeno que causó la Gran Hambruna de Irlanda en la década de 1840 (Bourke, 1993). En una reciente revisión sobre *P. infestans* se exploraron las características que hacen que este oomicete y su enfermedad demanden una constante atención, considerándolo un patógeno reemergente (Fry y col., 2015).

El tizón tardío de la papa causa cuantiosas pérdidas al año que incluyen tanto las pérdidas del cultivo, así como el costo en las medidas de control del tizón tardío. Las pérdidas globales se han estimado en € 9,4 mil millones por año considerando en conjunto a los países en desarrollo y desarrollados (Haverkort et al., 2016).

Las poblaciones de *P. infestans* de todo el mundo están en continuo proceso de adaptación, con rápidas y repentinas modificaciones en la dinámica poblacional gracias a la emergencia y migración sucesiva de líneas clonales. (Forbes, 2015; Acuña et al., 2015; Nielsen et al., 2014; Danies et al., 2014; Chowdappa et al., 2015).

Entre los mecanismos de exitosa adaptación y exploración de nuevas zonas productoras por parte de *P. infestans* podemos enumerar a i) la capacidad infectiva de los esporangios o zoosporas y de colonización del tejido del hospedante (agresividad); ii) la gran eficiencia de diseminación, iii) la capacidad de supervivencia entre estaciones de cultivo. Medidas tales como la tasa de crecimiento de la lesión y el período desde la inoculación hasta la esporulación (período latente) son otros componentes importantes para la determinación de la agresividad de los genotipos (Carlisle et al., 2002, Day y Shattock, 1997).

Este fenómeno enfatiza la necesidad de un monitoreo constante de la estructura de las poblaciones de *P. infestans* en Latinoamérica y el mundo y la caracterización de genotipos nuevos o invasivos para poder contrarrestarlos. Las estrategias de manejo deben adaptarse a la cambiante población.

El objetivo de un monitoreo global de *P. infestans* es capturar tanta variación genotípica como sea posible mediante el muestreo del mayor número de campos como sea posible en el marco de un programa de monitoreo de varios años y múltiples ubicaciones.

---

## Antecedentes

En la década del 90, el tizón tardío causó epifitias en numerosos sistemas productivos, debido principalmente a migraciones y cambios en las características de las poblaciones del patógeno en diferentes territorios e incluso entre continentes (Andrison et al., 2011; Fry et al., 2015; Fry, 2016). Dado lo anterior, diferentes grupos de investigadores alrededor del mundo se han enfocado en realizar estudios del patógeno, su epidemiología y ecología, el mejoramiento genético del cultivo y su manejo integrado para mejorar el control de la enfermedad. Se han formado redes de colaboración para promover la cooperación regional en torno a la enfermedad. Ejemplos de estas iniciativas se ven reflejados en Europa (EuroBlight), Estados Unidos (USABlight), América Latina (Tizón Latino) y Asia (AsiaBlight).

La inestabilidad genética de las poblaciones de *P. infestans* hace difícil su control. Asimismo, la dispersión de nuevos genotipos se ve favorecida por la creciente globalización del comercio y el cambio climático. Las estrategias de manejo deben adaptarse a esta particularidad cambiante de su población.

Los marcadores moleculares permiten verificar estos cambios genéticos, los cuales, complementados con estudios de agresividad de los genotipos, genes efectores, y sensibilidad a fungicidas permitan diseñar estrategias de manejo acorde a la población actual de una región. Una amplia gama de marcadores moleculares ha sido utilizada para monitorear la diversidad genética de *P. infestans* (Cooke y Lees, 2004), entre ellos, las repeticiones de secuencia simple o SSR (por sus siglas en inglés *Single Sequence Repeats*) o microsatélites ha demostrado su eficacia recientemente para definir genotipos multilocus o MLGs (por sus siglas en inglés *Multilocus genotypes*) (Lees et al., 2006).

En Argentina, los primeros abordajes genotípicos y fenotípicos de las poblaciones más recientes de *P. infestans* han mostrado un cambio en la dinámica poblacional respecto de los reportado a finales de los 90 (Lucca y Huarte, 2014, Lucca et al., 2019).

Teniendo en cuenta que el muestreo es un proceso crítico y que de esto dependerá el éxito en el análisis y su posterior aplicación para la toma de decisiones en el manejo de enfermedad, resulta relevante contar con un protocolo de muestreo que permita coleccionar, transportar y preservar de forma segura los tejidos de las plantas enfermas hasta el laboratorio de alta complejidad donde se llevan a cabo los estudios genómicos.

---

## Desafío

La incidencia de la enfermedad, la severidad y el patrón espacial podrá determinarse a partir de las muestras colectadas a campo. La precisión de estos datos colectados, así como el tiempo y el esfuerzo necesarios para obtenerlos, se ven afectados por la técnica de muestreo utilizada. Por lo anterior, el desafío de la presente capacitación fue transmitir a los investigadores y técnicos miembros de la plataforma Fontagro ATN/RF-16678-RG y productores locales una metodología estandarizada para el monitoreo de *P. infestans* en el campo mediante el empleo de tarjetas de muestreo FTA.

---

## Estado del Arte

El oomycete *Phytophthora infestans* es el organismo causal del tizón tardío de la papa y el tomate. *P. infestans* es un patógeno especializado, que causa principalmente enfermedades en el follaje y en los frutos de una variedad de especies Solanáceas. Este patógeno a nivel mundial presenta una alta variabilidad genética en sus poblaciones, las cuales se pueden expresar como resistencia a fungicidas, mayor agresividad o cambio en umbrales requeridos. El tizón tardío se ha convertido en una enfermedad reemergente en todo el mundo en los últimos años, más de 170 años después de la Gran Hambruna del Irlanda. La enfermedad ha alcanzado proporciones epidémicas en América del Norte, Rusia y Europa debido al desarrollo de resistencia a los fungicidas en las poblaciones del patógeno y la aparición generalizada de nuevos genotipos. La enfermedad ha sido responsable del uso extensivo de fungicidas en el cultivo de papa, y en muchas áreas del mundo el cultivo no puede cultivarse sin su aplicación frecuente. Nuevas cepas exóticas de *Phytophthora* son el resultado de la migración del inóculo en tubérculos de papa semilla por todo el mundo, así como de la recombinación sexual que puede darse en los campos cuando ambos tipos de apareamientos están presentes (A1 y A2).

La necesidad de desarrollar estrategias que aprovechen al máximo opciones alternativas para una protección más sostenible de los cultivos y una mejor administración de los fungicidas es prioritario. Para ser sostenibles y adoptadas, estas estrategias deben adaptarse a la variabilidad de las poblaciones de *P. infestans* y su rápida evolución, esto incluye un manejo integrado de la enfermedad, que supone que las poblaciones de patógenos sean monitoreadas tanto a nivel de genotipos como de fenotipos, incluidos la virulencia, agresividad y sensibilidad a los fungicidas, entre otras características.

---

## **Equipo de Trabajo**

La presente capacitación fue organizada por INIA Chile en el marco del Taller de la Plataforma Fontagro ATN/RF 16678 RG, realizado en Chiloé (Chile) y con apoyo del INTA Argentina para la preparación del Taller y el monitoreo a campo. Esta capacitación contó con un único orador, la Dra. Florencia Lucca, que presentó la metodología, compartió los archivos de trabajo y tarjetas de muestreo y discutió sobre la implementación de la metodología y el envío de muestras para estudios genómicos posteriores.

---

## Agenda

Taller sobre Monitoreo de *Phytophthora infestans* con tarjetas de muestreo FTA para estudios genotípicos

Fecha: 20 y 21 /04/2019

Lugar: Hotel de Castro, ChiloÉ, Chile.

Disertante sobre esta temática en particular: Dra. Florencia Lucca (INTA-Balcarce) \*

Programa general del Taller de la Plataforma Fontagro

### **Día 20/03/2019**

9.30 hrs – 10.00 hrs Presentación Propuesta FONTAGRO. Ivette Acuña

10.00 hrs – 10.20 hrs Situación Tizón Tardío Ecuador

10.20 hrs – 10.50 hrs Situación Tizón Tardío Panamá

10.50 hrs – 11.10 hrs Comentarios

11.10 hrs – 11.30 hrs Café

11.30 hrs – 11.50 hrs Situación Tizón Tardío Argentina

11.50 hrs – 12.10 hrs Situación Tizón Tardío Chile

13.00 hrs – 15.00 hrs Almuerzo (libre)

**15.00 hrs – 16.30 hrs Caracterización *Phytophthora infestans* y monitoreo. Florencia Lucca**

16.30 hrs - 17.15 hrs Conclusiones del día + café.

### **Día 21/04/2019 (Recorrida a campo – Puqueldón)**

9.30 hrs Salida bus desde Plaza de Armas de Castro

10.00 hrs Barcaza y cruce a Isla Lemuy (Chonchi)

**10.30 hrs Inicio recorrido agricultores Isla Lemuy (Muestreo a campo con tarjetas FTA)**

13.30 hrs Almuerzo (incluido) en Isla Lemuy

16.00 hrs Regreso a Chonchi-Castro (plaza de Armas)



---

## Presentaciones

### Presentación 1. Monitoreo y caracterización genotípica de poblaciones de *Phytophthora infestans*.

Florencia Lucca

#### Resumen

La necesidad de desarrollar estrategias que aprovechen al máximo opciones alternativas para una protección más sostenible de los cultivos y una mejor administración de los fungicidas es prioritario. Para ser sostenibles y adoptadas, estas estrategias deben adaptarse a la variabilidad de las poblaciones de *P. infestans* y su rápida evolución, esto incluye un manejo integrado de la enfermedad, que supone que las poblaciones de patógenos sean monitoreadas tanto a nivel de genotipos como de fenotipos, incluidos la virulencia, agresividad y sensibilidad a los fungicidas, entre otras características.

Cuando hay alta presión de la enfermedad y un esquema de aplicaciones químicas sub-óptimo, se ponen en riesgo la acción preventiva de los fungicidas.

Se necesita un mayor monitoreo e investigación de las poblaciones de *P. infestans* de Argentina y en Latinoamérica en relación a su sensibilidad a los fungicidas (o sus principios activos) empleados en su control. Para la práctica agrícola, es importante saber si los genotipos emergentes que surgen del monitoreo son también más difíciles de controlar utilizando determinados fungicidas en campos comerciales.

Con el fin de realizar estudios sobre la actividad preventiva, curativa y erradicante de los fungicidas para el control del tizón tardío, las experiencias de la Dra. Lucca en Wageningen University & Research serán presentadas a los integrantes de la plataforma del Proyecto Fontagro ATN/RF 16678-RG, a fin de armonizar protocolos para estudios regionales y globales de las poblaciones del patógeno.

---

#### MIP 2.0

Identificar adaptaciones en las poblaciones de *P. infestans* (sensibilidad a fungicidas) puede ser utilizada para modificar estrategias de control, acoplando la epidemiología con el apoyo a la toma de decisiones.

---

## Monitoreo y Caracterización genotípica de poblaciones de

### *Phytophthora infestans*

M. Florencia Lucca



## Genotipado en INTA



### Argentina

Sudeste de la Pcia. de Buenos Aires  
Tucumán (Pedemonte y Tafí del Valle)  
Córdoba (Córdoba y Villa Dolores)

AR-1 to AR-5, BR-1 ('90) **EU 2\_A1**

### Chile

Coquimbo  
Los Ríos  
La Araucanía  
Los Lagos  
Valparaíso

US-1 (hasta 2006) **EU 2\_A1**

### Brasil

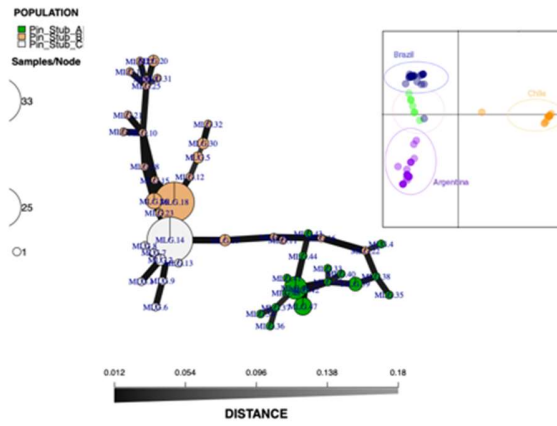
Paraná  
Rio Grande do Sul  
São Paulo  
Minas Gerais

BR-1 ('90) **EU 2\_A1**

**US-1** (en Tomate)



## Argentina, Brasil y Chile (2017-18)



---

## Lecciones aprendidas

A través de estas jornadas en Chile se obtuvieron como principales resultados la capacitación teórica y práctica de investigadores y técnicos de los países miembro de la Plataforma Fontagro ATN/RF 16678 RG. Se armonizó un protocolo para el monitoreo de poblaciones de *P. infestans* utilizando tarjetas de muestreo FTA, buscando que esta información sea de utilidad para adaptar las estrategias de control para un manejo sustentable del cultivo de papa y en particular del tizón tardío de la papa. Se sociabilizó entre investigadores y técnicos que participaron de la presente capacitación de un protocolo detallado de muestreo de *P. infestans* utilizando tarjetas FTA, un formulario anexo para la toma de datos asociados a cada tarjeta FTA, así como las tarjetas FTA codificadas para cada país y videos explicativos de apoyo en la actividad a campo.

---

## Conclusiones

Esta capacitación dirigida tanto a los integrantes de la Plataforma Fontagro ATN/RF 16678 RG como a productores y asesores locales permitió transferir conocimiento entre los países miembros en pos de una mejor caracterización genotípica de los aislamientos de *P. infestans* de Latinoamérica. La información tanto teórica como práctica, apoyada por videos explicativos y formularios de muestreo adjunto, brindó el apoyo necesario al momento de realizar el monitoreo en la práctica.

La metodología de muestreo con tarjetas FTA utilizada resultó una eficiente herramienta para investigar los cambios de la población de *P. infestans* en Argentina y Latinoamérica. Este protocolo de muestreo también está disponible para la Red de Investigación Tizón Latino.

Esta estrategia de monitoreo del agente causal apoyará el control sostenido del tizón que azota la producción de papa a nivel mundial, en un mundo globalizado en el cual es cada vez más frecuente el intercambio de papa para consumo en fresco o como papa semilla.

---

## Referencias

- ACUÑA, I.; RESTREPO, S., LOYOZA, H.; GABRIEL, J.; MORA, R. 2015. Tizón Latino: A Latin American network for the study of Solanaceae Blight Diseases. In: Proceedings of the Fifteenth Euroblight Workshop. PPO-Special Report no 17. pp. 249-250.
- ANDRIVON, D., AVENDAÑO-CÓRCOLES, J., CAMERON, A. M., CARNEGIE, S. F., COOKE, L. R., CORBIÈRE, R. & GRIFFIN, D. G. 2011. Stability and variability of virulence of *Phytophthora infestans* assessed in a ring test across European laboratories. *Plant Pathology*, 60(3): 556-565.
- BRASIER, C. M. 2009. *Phytophthora* biodiversity: how many *Phytophthora* species are there?. *Phytophthoras*. In *Forests and Natural Ecosystems*, vol. 101.
- CARLISLE DJ, COOKE LR, WATSON S, BROWN AE. 2002. Foliar aggressiveness of Northern Ireland isolates of *Phytophthora infestans* on detached leaflets of three potato cultivars. *Plant Pathology* 51 (4): 424–434.
- CHOWDAPPA, P., KUMAR, S. M., LAKSHMI, M. J., & UPRETI, K. K. 2013. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. *Biological control*, 65(1), 109-117.
- COOKE DEL Y LEES AK. 2004. Markers, old and new, for examining *Phytophthora infestans* diversity. *Plant Pathology* 53 (6): 692–704.
- DANIES, G., MYERS, K., MIDEROS, M.F., RESTREPO, S., MARTIN, F.N., COOKE, D.E.L., SMART, C.D., BANKS, E., RISTAINO, J.B., SEAMAN, A.J., GUGINO, B.K., GRÜNWARD, N.J., FRY, W.E. 2014. An ephemeral sexual population of *Phytophthora infestans* in the northeastern United States and Canada. *PLoS ONE* 9(12) doi: 10.1371/journal.pone.0116354.
- DAY JP, SHATTOCK RC. 1997. Aggressiveness and other factors relating to displacement of populations of *Phytophthora infestans* in England and Wales. *European Journal of Plant Pathology* 103: 379–391.
- DE BARY, A. 1876. Researches into the nature of the potato-fungus-*Phytophthora infestans*. *Journal of the Royal Agricultural Society of England*, 12. pp 239-269.
- FORBES, G.A. 2015. Recent developments concerning the population biology and control strategies of *Phytophthora infestans* in Asia and Africa. In: Proceedings of the Fifteenth Euroblight Workshop. PPO-Special Report no 17. pp. 51-56.
- FRY W. E., BIRCH P. R. J., JUDELSON H. S., GRÜNWARD N. J., DANIES G., EVERTS K. L., GEVENS A. J., GUGINO B. K., JOHNSON D. A., JOHNSON S. B., MCGRATH M. T., MYERS K. L., RISTAINO J. B., ROBERTS P. D., SECOR G., AND SMART C. D. 2015. Five Reason to Consider *Phytophthora infestans* a Reemerging Pathogen. *Phytopathology*. Volumen 105, Number 7. pp. 966-981.

- 
- FRY W. E. 2016. *Phytophthora infestans*: New tools (and Old Ones) Lead to New Understanding and Precision Management. Annual Review of Phytopathology 2016. Córdoba, España. 54(1):529-547.
- HAVERKORT, A. J., BOONEKAMP, P. M., HUTTEN, R., JACOBSEN, E., LOTZ, L. A. P., KESSEL, G. J. T., VISSER, R. G. F. 2016. Resistencia duradera al tizón tardío en papa a través de variedades dinámicas obtenidas por cis-génesis: avances científicos y sociales en el proyecto DuRPh. Potato Research, 59(1): 35-66.
- KROON, L.P.N.M., BROUWER, H., de COCK A., GOVERS, F. 2012. The Genus *Phytophthora* Anno 2012. Phytopathology, 102. pp 348-364.
- LEES AK, WATTIER R, SHAW DS, SULLIVAN L, WILLIAMS NA Y COOKE, D.E.L. 2006. Novel microsatellite markers for the analysis of *Phytophthora infestans* populations. Plant Pathology 55 (3): 311–319.
- LUCCA, M.F. Y HUARTE, M.A. 2014. Situación del tizón tardío en Argentina. En XXV Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa. Papa, alimento ayer, hoy y siempre: memorias del evento. ISBN 978-987-45615-0-3. pp 57-58.
- LUCCA, M.F., RESTREPO, S., DANIES, G., ACUÑA, I., ZANOTTA, S. 2019. Monitoring of *Phytophthora* spp on potato crops and Solanaceous host in Latin America. En: Proceedings of the Seventeenth Euroblight Workshop. Special Report 19: 137-142.
- NIELSEN, B. J., COOKE, D. E., HANSEN, J. G., & SCHEPERS, H. T. A. M. 2014. Monitoring the Danish population of potato late blight pathogen, *Phytophthora infestans* in 2011-2012 and occurrence of 13\_A2. In Proceedings of the Fourteenth EuroBlight Workshop. Special Report no 16. pp. 159-162.

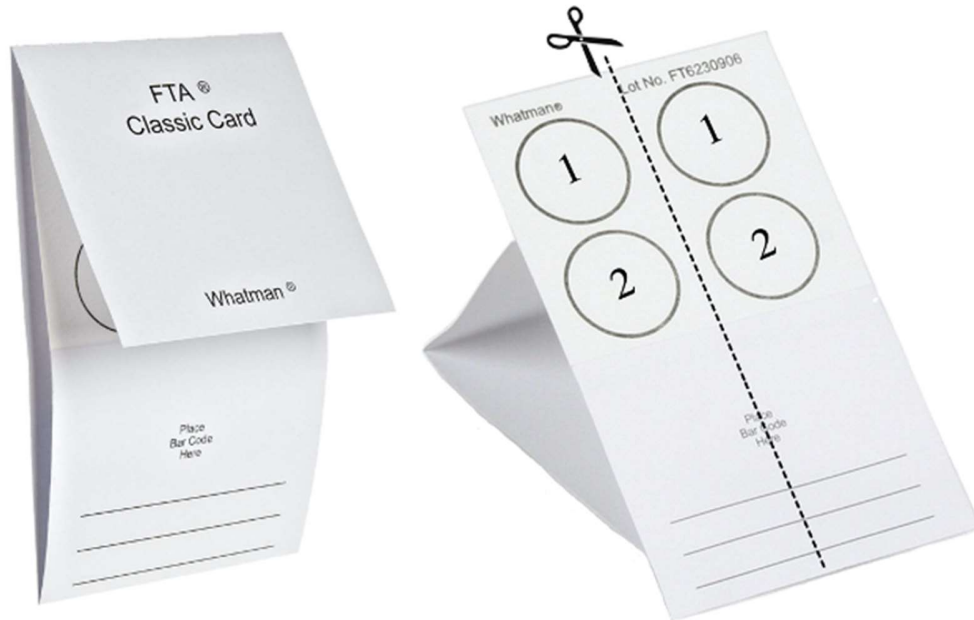


---

## Imágenes



**Figura 1.** Metodología de monitoreo de poblaciones de *P. infestans* a campo utilizando tarjetas de muestreo FTA.



**Figura 2.** Sistema de muestreo en tarjetas FTA utilizado para la colección, transporte y conservación de hojas de papa con lesiones de *P. infestans*. La tarjeta FTA original se subdivide por la mitad, quedando dos zonas de muestreo (1 y 2) por muestra de *P. infestans* colectada.

---

## Biografías de los participantes



### **Ana Maria Florencia LUCCA:**

Estación Experimental Agropecuaria Balcarce

Ingeniera agrónoma apasionada por el cultivo de papa y la fitopatología. Doctora en Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires). Investigadora en el Instituto Nacional de Tecnología Agrícola (INTA) y en colaboración con Wageningen University and Research (Holanda) en el marco de un postdoc itinerante. Responsable del Laboratorio de Micología y Bacteriología del Grupo de Investigación en Papa y Sanidad Vegetal de la EEA INTA Balcarce. Trabaja con diversos grupos científicos de todo el mundo, con una visión global de los Sistemas de Apoyo a la toma de Decisiones para el control del tizón tardío de la papa y de la genotipificación de poblaciones de *P. infestans*. Con experiencia práctica en Argentina (donde la papa se produce en diferentes zonas climáticas en todo el país), en América Latina y en Europa, capaz de ser adaptada o extrapolada a nuevas áreas productivas para incrementar el conocimiento en papa de manera duradera. Coordinadora de la genotipificación de poblaciones de *P. infestans* de la Red latinoamericana de investigación en tizones: TizonLatino.

Secretaría Técnica Administrativa



Con el apoyo de:



[www.fontagro.org](http://www.fontagro.org)

Correo electrónico: [fontagro@fontagro.org](mailto:fontagro@fontagro.org)

Secretaría Técnica Administrativa



Con el apoyo de:



[www.fontagro.org](http://www.fontagro.org)

Correo electrónico: [fontagro@fontagro.org](mailto:fontagro@fontagro.org)