



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO
POSTGRADO DE FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA**

**IDENTIFICACIÓN DE RAZAS DE *Bremia lactucae* Y
CARACTERIZACIÓN DE VARIEDADES DE LECHUGA**

LILIANA SALAZAR ORDAZ

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO.

2011

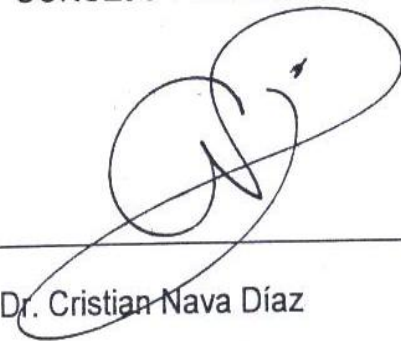
La presente tesis titulada **IDENTIFICACIÓN DE RAZAS DE *Bremia lactucae* Y CARACTERIZACIÓN DE VARIEDADES DE LECHUGA** realizada por la alumna **LILIANA SALAZAR ORDAZ** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS

FITOSANIDAD

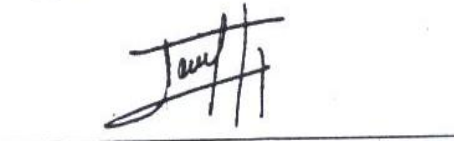
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



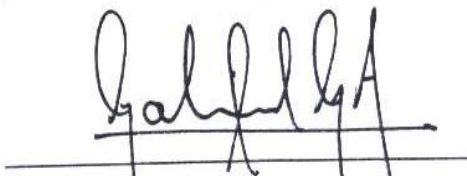
Dr. Cristian Nava Díaz

ASESOR:



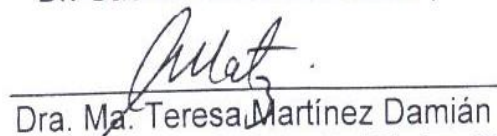
Dr. Daniel Nieto Angel

ASESOR:



Dr. Gabriel Gutiérrez Alonso

ASESOR:



Dra. Ma. Teresa Martínez Damián
Montecillo, Texcoco, Estado de México, 2011

RESUMEN

El presente trabajo se llevó a cabo para determinar la distribución e incidencia de *Bremia lactucae* en los estados de Guanajuato, Puebla y Zacatecas, asimismo se evaluó la resistencia a este patógeno y la calidad postcosecha en 18 variedades de lechuga: Yuma, Costello, Grizzly, Honcho II, Rhino, Top Billings, Warrior, Magnum, Annie, Cool Guard, Denver, Raider, Stallion, Top Gun, Sure Shot, Niner, Red Coach y 9852.

Nuestros resultados permitieron confirmar la presencia del patógeno en los estados de Guanajuato, Zacatecas y Puebla donde la incidencia promedio fue 43.11%, 100% y 21.5% respectivamente. Las variedades de lechuga más cultivadas en estos estados fueron Sun Devil, Siskiyou y Coolguard. Sin embargo, las variedades con mayor intensidad de la enfermedad fueron Sun Devil, Yuma, Acropolis, Seminol, Paul Green y Valley Green, donde la enfermedad se presenta con una incidencia promedio de 100%. Asimismo se definió que para la estación de invierno, *Bremia lactucae* tiene el potencial de afectar la parte norte del estado de Michoacán, Guanajuato, parte oriente de Jalisco, Aguascalientes, zona sur de Zacatecas y zona sur de San Luis Potosí.

Para el análisis de calidad, se llevó a cabo un análisis de multivariado por conglomerados (cluster análisis) por el método de Ward en el paquete estadístico SAS versión 9.0 Se observaron tres grupos utilizando 10 variables de calidad. En el primer grupo se encuentran las variedades 9851, Niner, Grizzli y Warrior. En el segundo grupo se encuentran las variedades Annie, Honcho, Coolguard, Raider, Red Coach, Yuma, Stallion y Top Gun. Y en el tercer grupo se encuentran las variedades Costello, Rhino, Denver, Top Billings, Magnum y Sure Shot.

Después de realizadas las inoculaciones, se observó que las variedades Annie, Coolguard y Denver fueron las más susceptibles a la enfermedad, mientras que las variedades que mostraron más tolerancia fueron Costello, Top Billings, Top Gun y Red Coach.

Palabras clave: Lechuga, *Bremia lactucae*, calidad postcosecha, susceptibilidad

ABSTRACT

This work was carried out to determine the distribution and incidence of *Bremia lactucae* in the states of Guanajuato, Puebla and Zacatecas also evaluated the resistance to this pathogen and postharvest quality in 18 varieties of lettuce: Yuma, Costello, Grizzly, Honcho II, Rhino, Top Billings, Warrior, Magnum, Annie, Cool Guard, Denver, Raider, Stallion, Top Gun, Sure Shot, Niner, Red Coach and 9852.

Our results confirmed the presence of the pathogen in the states of Guanajuato, Zacatecas and Puebla, where the average incidence was 43.11%, 100% and 21.5% respectively. More varieties of lettuce grown in these states were Sun Devil, Siskiyou and CoolGuard. However, varieties with increased disease severity were Sun Devil, Yuma, Acropolis, Seminole, Paul Green and Green Valley, where the disease occurs with an average incidence of 100%. It also determined that for the winter season, *Bremia lactucae* has the potential to affect the northern part of the state of Michoacán, Guanajuato, eastern part of Jalisco, Aguascalientes, Zacatecas and southern part of southern San Luis Potosi.

For quality analysis was carried out a multivariate cluster analysis (cluster analysis) by the method of Ward in the SAS statistical package version 9.0. Three groups were observed using 10 quality variables. The first group includes the varieties 9851, Niner, Grizzly and Warrior. In the second group are the varieties Annie, Honcho, CoolGuard, Raider, Red Coach, Yuma, Stallion and Top Gun. And the third group are the varieties Costello, Rhino, Denver, Top Billings, Magnum and Sure Shot.

After making the inoculations, we observed that the varieties Annie, CoolGuard and Denver were the most susceptible to the disease, while showing more tolerance varieties were Costello, Top Billings, Top Gun and Red Coach.

Key words: Lettuce, *Bremia lactucae*, postharvest quality, susceptibility

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) que con su apoyo económico hizo posible mi estudio de postgrado.

Al Colegio de Postgraduados, por haberme brindado la oportunidad de superarme en mis estudios profesionales.

Al Dr. Cristian Nava Díaz, por su amistad sincera, sus valiosas enseñanzas e incondicional disposición en la organización, dirección y culminación del presente trabajo que hizo posible gracias a sus atinadas sugerencias a lo largo de mi estancia en el postgrado.

Al Dr. Daniel Nieto Ángel, por su amistad, apoyo y disposición en la revisión de este trabajo, haciéndome muy valiosas sugerencias.

Al Dr. Gabriel Gutiérrez Alonso, con todo mi respeto y agradecimiento por su disponibilidad y apoyo en presente trabajo de investigación.

A la Dra. Teresa Martínez Damián, por su contribución y experiencia en el ámbito postcosecha.

A la estación experimental de SEMINIS ubicada en Apaseo el Grande, por la colaboración en esta investigación.

A mis amigos y compañeros del Colegio, quiénes hicieron más agradable la vida en el postgrado, gracias a todos por los momentos inolvidables.

DEDICATORIA

A Dios, por guiar mis pasos y llenarme de fortaleza en los momentos difíciles.

A mis padres, Angélica y Mario:

Por el apoyo incondicional que siempre me han brindado para cumplir mis metas profesionales y personales, sobre todo por el amor y la confianza que me han dado en cada momento, lo que me ha permitido ser la mujer que soy, este éxito también es de ustedes.

Simplemente GRACIAS!!!!

A mi hermanito Omar:

Por su comprensión, cariño y apoyo; por ser mi amigo y confidente!!!!!!!

Con todo mi amor

LILIANA

IDENTIFICACIÓN DE RAZAS DE *Bremia lactucae* Y

CARACTERIZACIÓN DE VARIEDADES DE LECHUGA

CAPITULO 1 REVISION DE LITERATURA.....	1
Origen y distribución de la lechuga	1
Principales países productores de lechuga	1
Importancia económica	4
Taxonomía y Morfología.....	5
Valor nutricional	6
Calidad	7
Cosecha y postcosecha	8
Índices de cosecha	9
Enfermedades postcosecha.....	9
Enfermedades abióticas	9
Enfermedades bióticas	10
CAPITULO 2 DISTRIBUCION E INCIDENCIA DE <i>Bremia lactucae</i>	
EN MEXICO	19
Introducción	20
Objetivos.....	21
Materiales y métodos.....	21
Sitios de muestreo.....	22
Intensidad de la enfermedad	22
Muestras	22
Identificación del Patógeno	23
Mapeo	23
Resultados y discusión	23
Conclusiones	27
CAPITULO 3 CARACTERIZACIÓN MULTIVARIADA DE 18	
VARIEDADES DE LECHUGA	33
Introducción	33
Objetivos.....	35
Materiales y métodos.....	35
Cultivo	35
Cosecha	35
Variables de calidad	36
Análisis estadístico.....	37

Resultados y discusión	38
Conclusiones	41
Literatura citada	42
CAPITULO 4. RESISTENCIA DE 19 VARIEDADES DE LECHUGA A	
Bremia lactucae	44
Introducción	44
Objetivo	47
Materiales y métodos.....	47
Sitios de muestreo.....	47
Identificación molecular	47
Incremento del inóculo y purificación.....	48
Inoculación	49
Resultados.....	49
Conclusiones	51
Literatura citada.....	52

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Capítulo 1

Cuadro 1. Producción de lechuga a nivel mundial durante 2001-2002.....	2
Cuadro 2. Avance de siembras y cosechas de lechuga en México, resumen nacional por Estado en el ciclo otoño-invierno 2010 riego+temporal.....	3
Figura 1. Ciclo de vida de <i>Bremia lactucae</i>	4

Capítulo 2

Figura 1. Síntomas típicos de <i>Bremia lactucae</i> en lechuga colectada en Puebla, México.....	24
Cuadro 1. Sitios de muestreo, variedades colectadas e incidencia de <i>Bremia lactucae</i> en lechuga.	25
Figura 2. Intensidad de <i>Bremia lactucae</i> en la zona central de México de acuerdo a la latitud y longitud.....	26
Figura 3. Estimación de la presencia y severidad de <i>Bremia lactucae</i> en la zona centro de México en base a un muestreo en Guanajuato, Zacatecas y Puebla.	27

Capítulo 3

Cuadro 1. Evaluación de ocho variables de calidad evaluadas en 18 variedades de lechuga el 28 de febrero del 2008.....	38
Cuadro 2. Evaluación de ocho variables de calidad evaluadas en 18 variedades de lechuga el 29 de febrero del 2008.....	39
Cuadro 3. Evaluación de tres variables de calidad evaluadas en 18 variedades de lechuga.....	40
Figura 1. Dendograma resultado del análisis multivariado de diez variables de calidad evaluadas en 18 variedades de lechuga.	41

Capítulo 4

Cuadro 1. Espectros de virulencia de las cepas de <i>Bremia lactucae</i> caracterizadas en los Países Bajos entre 1960 y 1990.....	44
Cuadro 2. Espectros de virulencia de las cepas de <i>Bremia lactucae</i> aparecidas en Europa en los años 90.....	46
Cuadro 3. Origen y variedad de <i>Bremia lactucae</i> colectado en este estudio y enviadas a secuenciar.....	49
Cuadro 4. Resultado del inóculo colectado en los estados de Guanajuato, Zacatecas y Puebla en las variedades Top Billings, Top Gun, Acropolis, Costello, Olmeca, Raider, Sun Devil, Paul Green, Sahara, Seminol, Yuma, Warrior, Valley Green y Magnum en 19 variedades de lechuga.....	50
Figura 1. Producto amplificado con los primers ITS.....	50

CAPITULO 1 REVISION DE LITERATURA

La lechuga es el cultivo más importante para el mercado de hortalizas que se comercializan en fresco en términos de peso, producción y valor de mercado. Se pueden reconocer tres inclinaciones en el consumo de la lechuga. La tendencia más significativa internacionalmente es la exportación de lechuga para su consumo en fresco, ensalada de barra de los restaurantes; otro es el uso de la lechuga en trozos cerca de los sitios de cosecha y el consumo empaquetado para tiendas y restaurantes (Ryder, 1979).

Origen y distribución de la lechuga

El origen de la lechuga no parece estar muy claro, Aunque el botánico Vavilov mencionaba que el origen de la lechuga se sitúa en el Cercano Oriente. Hoy en día no existe un acuerdo al respecto del origen debido a la aparición de un segundo antecesor de la lechuga *Lactuca scariola* L.L., que se encuentra en estado silvestre en la mayor parte de las zonas templadas (Mallar 1978), siendo las variedades actualmente cultivadas el resultado de una hibridación entre distintas especies. El cultivo de la lechuga se remonta a una antigüedad de 2,500 años, siendo conocida por griegos y romanos. Las primeras lechugas de las que se tiene referencia son las de hoja suelta, aunque las acogolladas eran conocidas en Europa en el siglo XVI.

Principales países productores de lechuga

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es uno de los cultivos hortícolas más importantes a nivel mundial. La producción mundial de lechuga en el 2002 fue de 18.75 millones de toneladas y China fue el principal productor del mundo con 8 millones de toneladas, Estados Unidos de Norteamérica, ocupó el segundo lugar con 4.35 millones de toneladas y México ocupó el octavo lugar con 234.452 toneladas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Producción de lechuga a nivel mundial durante 2001-2002. Fuente FAO.

PAÍSES	PRODUCCIÓN LECHUGAS AÑO 2001 (toneladas)	PRODUCCIÓN LECHUGAS AÑO 2002 (toneladas)
China	7.605.000	8.005.000
Estados Unidos	4.472.120	4.352.740
España	972.600	914.900
Italia	965.593	845.593
India	790.000	790.000
Japón	553.800	560.000
Francia	490.936	433.400
México	212.719	234.452
Egipto	179.602	179.602
Bélgica-Luxemburgo	170.000	170.000
Alemania	166.493	195.067
Australia	145.000	145.000
Reino Unido	139.200	149.900
Portugal	95.000	95.000
Chile	85.000	86.000

A nivel nacional los estados con mayor superficie sembrada al 31 de junio de 2010, fueron Guanajuato, Puebla y Baja California, con 2,394, 1,342 y 1,234 hectáreas respectivamente (Cuadro 2).

En Guanajuato se reportó una producción de 36,410 toneladas, Puebla de 28,424 toneladas y Baja California cosecharon 20,848 toneladas. A pesar de que en Guanajuato cuenta con casi el doble de superficie la producción no representa el mismo incremento, posiblemente como resultado del nivel de tecnología utilizado en la producción del cultivo en los dos últimos estados (Siap.Sagarpa, 2010).

Cuadro 2. Avance de siembras y cosechas de lechuga en México, resumen nacional por estado en el ciclo otoño-invierno 2010 riego+temporal.

Estado	Superficie (ha)		Producción (ton)	Rendimiento (ton/ha)
	sembrada	cosechada	Obtenida	Obtenido
AGUASCALIENTES	555	555	15,535	27.991
BAJA CALIFORNIA	1,234	1,234	20,848	16.888
DISTRITO FEDERAL	26	26	351	13.500
GUANAJUATO	2,394	2,084	36,410	17.471
JALISCO	221	208	3,669	17.640
MEXICO	42	36	617	16.903
MICHOACAN	279	263	6,414	24.351
PUEBLA	1,342	1,219	28,424	23.312
QUERETARO	307	307	7,631	24.857
SAN LUIS POTOSI	127	127	3,962	31.197
SONORA	426	426	8,296	19.451

TLAXCALA	49	49	1,201	24.510
VERACRUZ	15			
ZACATECAS	881	563	12,012	21.337
TOTAL	7,900	7,099	145,371	20.477

Fuente: Elaborado por el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), con información de las Delegaciones de la SAGARPA.

En México se conocen principalmente dos tipos de lechuga: romana y larga u orejona, y dentro de estas las principales variedades sembradas son: Cool Guard, Climax, Marksam, Sedona, Salinas 88118 Aswrog, Bounty, Warrior, Magnum (romanas) y Parris, Island Coss, Great Lakes (orejonas), tomando en cuenta que a cada una de estas le corresponde una temporada de siembra y una zona de producción específica (ASERCA 2000).

En el estado de Puebla, se utilizan para la siembra de primavera (abril a septiembre) las variedades de lechuga Top Gun, Annie, Warrior, Van Sal 210 y Patriot, entre otras y para el periodo de otoño (octubre a marzo): Honcho, Cool Breeze, Cool Guard, Shilo y Prime Time principalmente. En el Estado de Guanajuato, se manejan variedades más pequeñas, que oscilan entre los 15 y 25 cm de diámetro (ASERCA 2000).

Importancia económica

La lechuga es un vegetal que se consume principalmente en fresco, en ensaladas, una ventaja agronómica que tiene este cultivo es el presentar un corto ciclo vegetativo, lo que permite su producción todo el año (Maroto 1989).

La lechuga es exportada principalmente a Estados Unidos de Norteamérica, donde tiene el mayor valor de compra en dólares. El estado de Guanajuato cuenta con una gran cantidad de productores que tienen situado su mercado de venta en la costa este de Estados Unidos de Norteamérica a través de ventas de oportunidad, es decir siempre y cuando ocurra algún fenómeno que afecte la situación de ese mercado, mientras que en el estado de Puebla, la producción es utilizada principalmente para abastecer el mercado nacional, donde la mayoría se vende en el Valle de México (ASERCA 2000).

Taxonomía y Morfología

La lechuga, cuyo nombre botánico es *Lactuca sativa* L., es una planta anual y autógena, perteneciente a la familia Compositae considerada como la familia más grande de las angiospermas, con casi 1000 géneros y tal vez 20 000 especies.

-Raíz: la raíz, 25 cm de profundidad, es pivotante, corta y con ramificaciones. La raíz principal, al no encontrarse con barreras físicas puede llegar a profundizar hasta 1.2 m, no obstante lo más común es que el sistema radical se desarrolle en los primeros 20 – 30 cm de la capa del suelo (Garza, 1985).

-Hojas: las hojas están colocadas en roseta, desplegadas al principio; en unos casos siguen así durante todo su desarrollo (variedades romanas), y en otros se acogollan más tarde. Los limbos pueden ser simples, con borde entero, liso, crespo o lobulado, de lámina orbicular, oblonga o espatulada, de color verde pálido oscuro. En etapa reproductiva, las hojas que surgen presentan limbos sagitados o auriculados siendo de tamaño más pequeño que aquellas localizadas hacia arriba (Garza, 1985).

-Tallo: es cilíndrico y ramificado, epigeo de consistencia herbácea, alcanzando una longitud entre 10 y 15 cm, debido a que en las primeras etapas, el tallo no crece mucho, la lechuga adquiere la peculiar forma arrosetada (Garza, 1985).

-Semillas: Son de forma alargada, de color blanco y en algunas variedades desde pardo claro hasta castaño oscuro, comúnmente maduran a los 12 – 15 días después de la floración (Pérez et al., 1997).

Valor nutricional

La lechuga es una hortaliza pobre en calorías, aunque las hojas exteriores son ricas en vitamina C. La lechuga también puede presentar un peligro a la salud, al ser el medio de transmisión de enfermedades como cólera, fiebre tifoidea, salmonelosis, hepatitis, las cuales se pueden diseminar a través del agua utilizada en el riego de esta hortaliza.

Valor nutricional de una porción de 100 g de lechuga	
http://www.nal.usda.gov/fnic/cgi-bin/nut_search.pl	
Carbohidratos	20.1 g
Proteínas	8.4 g
Grasas	1.3 g
Calcio	0.4 g
Fósforo	138.9 mg
Vitamina C	125.7 mg
Hierro	7.5 mg
Niacina	1.3 mg
Riboflavina	0.6 mg
Tiamina	0.3 mg
Vitamina A	1155 U.I.
Calorías	18 cal

Calidad

La calidad de los vegetales es uno de los parámetros más importantes que influyen en la aceptación del consumidor a nivel local e internacional. El concepto calidad involucra una serie de criterios relacionados con diferentes aspectos: físicos, nutricionales, químicos y biológicos que los productores deben considerar para seguir una estrategia que les permita competir con sus productos en el mercado. Esta estrategia se basa en tres componentes: 1) Conocer los criterios de calidad, de acuerdo a las guías nacionales e internacionales existentes; 2) La aplicación de tecnologías de producción, en conformidad con un manejo integrado de producción y protección del ambiente; y 3) La implementación de una estrategia de mercado con productos, certificando el origen, la calidad y la seguridad (Baudoin, 1999).

Al aplicar el concepto de calidad específicamente a la lechuga, las características más apreciadas son la presencia de signos de frescura, hojas brillantes libres de daños, sin amarillamientos o decoloraciones, sin quemaduras en sus bordes y con nervaduras que no tengan rajaduras (Baron *et al.*, 1996).

Muchos factores de precosecha determinan la composición y calidad de los productos hortícolas. La influencia de cada uno puede variar en su intensidad y hacerlo en forma individual o por interacción con otros factores. Por lo tanto la calidad comienza a determinarse mucho antes de la cosecha y es importante conocer la manera en que estos factores afectan el comportamiento de las hortalizas posteriormente a su cosecha. Dentro de los factores precosecha se encuentran: el material genético y fisiología de la planta (Lata y Przeradzka, 1999), la fertilización (Arias, 1998) y factores ambientales (Gazula *et al.*, 2004). Respecto al material genético y fisiología, Couture *et al.* (1993) trabajando con lechugas de cabeza mínimamente procesadas cosechadas en estado inmaduro, maduro y sobremaduro, encontraron que entre los 6 y 10 días de almacenamiento existían diferencias significativas en la calidad visual (pardeamiento).

Por otro lado, Arias, 1998, reporta que la calidad y el rendimiento de lechuga son afectados marcadamente por una fertilización nitrogenada. Por ejemplo, una fertilización deficiente en nitrógeno origina plantas pequeñas de color amarillo y poco suculentas. Sin embargo, dosis altas provocan un rápido crecimiento de las plantas, con atraso en la formación de la parte comestible (Arias, 1998). Gazula *et al* (2004), reportan que las condiciones agroecológicas en las que se desarrolla el cultivo, en especial radiación, temperatura, humedad atmosférica, factores bióticos disponibilidad de agua en el suelo, afectan la calidad de la lechuga.

Cosecha y postcosecha

Los ambientes postcosecha, en gran medida, son diseñados para reducir la respiración, transpiración y producción de etileno, que son las tres variables que están vinculadas a procesos que implican el deterioro y la pérdida de atributos de calidad del producto vegetal. La transpiración implica una pérdida neta de peso fresco en forma de vapor de agua desde los tejidos vegetales que además afecta otros aspectos que hacen a la calidad visual, como la turgencia y la ausencia de signos de marchitamiento entre otros (Sommer, 1992). Uno de los factores más importantes que influyen en la prolongación de la vida postcosecha de los productos hortícolas es la temperatura. La práctica más aconsejable para prolongar la vida útil lo máximo posible es comenzar con la reducción de la temperatura de fruto o planta inmediatamente posterior a su cosecha. En lechuga, una vida de anaquel de 21 días puede lograrse a una temperatura de 0°C con >95% HR. A 5°C se pueden obtener 14 días de almacenamiento siempre y cuando no haya etileno en el ambiente. El enfriamiento por vacío (vacuum cooling) se utiliza generalmente para la lechuga romana. El enfriamiento por aire forzado también puede ser usado pero requiere cuidado ya que si la lechuga es almacenada a menos de 0.2°C, aparece un oscurecimiento traslúcido o área embebida en agua, la cual se deteriora rápidamente después de descongelarse (Salveit, 1997).

Índices de cosecha

La calidad de la lechuga puede ser determinada objetivamente midiendo sus componentes físicos o químicos. Propiedades como textura, firmeza, sabor, olor y calidad nutricional pueden determinarse mediante métodos no destructivos. Algunos de estos utilizan la resonancia magnética nuclear y la cromatografía de gases. Los atributos de interés para los consumidores son: madurez o apariencia visual, textura, firmeza, valor nutricional y seguridad alimentaria. Estos atributos pueden ser estimados por métodos destructivos y algunos de ellos por métodos no destructivos (Watada, 1999).

La madurez en lechuga es una característica de calidad que está basada en la compactación de la cabeza. Una cabeza compacta se define como la que requiere de una fuerza manual moderada para ser comprimida, y es considerada apta para ser cosechada. Una cabeza muy suelta es considerada como inmadura y una muy firme o extremadamente dura es considerada sobremadura. Las cabezas inmaduras y maduras tienen mucho mejor sabor que las sobremaduras (Cantwell y Suslow, 2000; Cantwell *et al.*, 2000).

Enfermedades postcosecha

Enfermedades abióticas

Puntas quemadas (*tipburn*). Es una alteración que se produce en el campo y se relaciona con las condiciones climáticas, variedad y nutrición mineral. Las hojas con las puntas quemadas dan una apariencia desagradable y el margen de la hoja dañada es más débil y susceptible a pudriciones.

Lesión por exposición a etileno. Es una alteración debida a la exposición de la planta de lechuga cosechada a etileno lo que estimula la producción de compuestos fenólicos que a su vez conducen a la producción de pigmentos que pardean el tejido. Las manchas pardas aparecen especialmente en la nervadura central. Bajo condiciones severas, las manchas se encuentran en el tejido verde de las hojas y en toda la cabeza. Esta fisiopatía es estrictamente cosmética, pero afecta negativamente la comercialización de la lechuga. La contaminación por etileno puede originarse por montacargas que trabajan o funcionan con propano, transporte de cargas mixtas, o almacenaje con frutas productoras de etileno tales como manzanas, peras y duraznos (Cantwell, *et.al.* 2000).

Mancha parda (Brown stain). Los síntomas de esta fisiopatía son grandes manchas deprimidas de color amarillo rojizo principalmente en la nervadura media de las hojas. Estas pueden oscurecerse o agrandarse con el tiempo. La mancha parda es causada por la exposición a CO₂, especialmente cuando la concentración es más del 5%.

Costilla o nervadura rosada (*pink rib*) es una alteración asociada a las cabezas que están demasiado maduras. El almacenamiento a temperaturas más altas que las recomendadas puede conducir a una incidencia más alta de esta alteración. En esta alteración, la nervadura central se torna de un color rosáceo. La exposición a etileno no parece provocar la costilla o nervadura rosada y bajas concentraciones de O₂ no lo controlan

Enfermedades bióticas

Tizón bacteriano *Pseudomonas cichorii*. Los síntomas se observan como una necrosis de color marrón oscuro en los bordes de las hojas, se desarrolla un rayado necrótico longitudinal de color marrón claro y apariencia seca a lo largo del tallo, esta bacteria sobrevive en el suelo o de forma epífita sobre hojas.

Mancha foliar *Pseudomonas marginalis*. Este patógeno se manifiesta con una necrosis de color marrón en los márgenes de las hojas, que se extiende hacia el centro de la hoja a través de las venas. Usualmente se puede llegar a confundir con la quemazón de la hoja, al comienzo de la enfermedad se torna suave y húmeda, pero con el tiempo se seca. Se pueden observar manchas pequeñas rojizas cerca del margen de las hojas, esta bacteria se encuentra en el suelo y puede encontrarse en asociación con *P. cichorii*.

Virus Mosaico de la Lechuga (Lettuce Mosaic Virus LMV). Es una de las enfermedades más dañinas de la lechuga. Los síntomas varían dependiendo del cultivar, la edad de la planta y las condiciones ambientales existentes. Las hojas de plantas jóvenes muestran un moteado verde claro o mosaico, otros síntomas son aclaramiento de las venas, rayado necrótico, reducción del crecimiento de la planta y distorsión. Este virus se transmite por semilla y por áfidos como *Myzus persicae* y *Aphis gossypii*. Puede sobrevivir en malezas y ornamentales, los principales fuentes de infección son la semilla y hospedantes alternos.

Cenicilla *Erysiphe cichoracearum*. Esta enfermedad puede causar una disminución en el rendimiento y calidad del cultivo, principalmente en condiciones ambientales secas, este hongo se reconoce por el polvo blanco que se acumula en la superficie de las hojas. Las hojas van cambiando de un color verde pálido a amarillo, luego marrón y finalmente mueren, este hongo sobrevive en plantas viejas infectadas y las esporas son diseminadas por el viento.

Moho Gris *Botrytis cinerea*. Se trata de un patógeno secundario, cuando las condiciones ambientales son favorables se convierte en una enfermedad de importancia en el campo en almacenamiento y en mercado, el follaje se observa blando, acuoso y cubierto del crecimiento gris del hongo. Este hongo sobrevive en residuos de cosecha, numerosos cultivos y malezas.

Mildiu *Bremia lactucae*

El mildiú de la lechuga, causado por *Bremia lactucae* es un patógeno de importancia económica en todo el mundo, tanto a cielo abierto como en invernadero. Fue reportada por primera vez en 1843 en Europa, por el investigador Regel (Walker, 1965) atacando a más de 200 especies de la familia Asteraceae (Crute, 1981; Lebeda *et al.*, 2006). En América se conoce desde 1875. Actualmente es una enfermedad común en las zonas productoras de lechuga tanto en campo abierto como en invernadero de todo el mundo (Walker, 1965).

Clasificación taxonómica

Reino	Stramenopila
Phyllum	Oomycota
Clase	Oomycetes
Subclase	Oomycetidae
Orden	Peronosporales
Genero	<i>Bremia</i>
Especie	<i>Bremia lactucae</i>

Importancia del patógeno

El mildiú veloso es una enfermedad que afecta principalmente la calidad del cultivo, las hojas presentan áreas blancas y posteriormente ocurre amarillamiento gradual de las hojas adultas y se necrosan finalmente. Por lo tanto estas hojas no se comercializan. Las pérdidas económicas por la enfermedad varían dependiendo de la región geográfica, la época del año y el tipo de lechuga (Smith, 1992).

Dixon 1981, señala que dichas pérdidas económicas alcanzan del 30 al 50%. En invernadero esta enfermedad es una de las más agresivas, atacando plantas jóvenes de manera que los primeros síntomas se pueden observar sobre los cotiledones, los cuales una vez infectados se ponen cloróticos, se secan y mueren prematuramente. Aunque esta enfermedad no excluye plantas de todas las edades, presentando mayor severidad en las láminas y nervaduras de las hojas (Achar 1996).

Las lesiones que causa el mildiú predispone a la planta para que un segundo organismo pueda invadirlo (principalmente bacterias). Las pérdidas económicas por el mildiú varían de forma considerable, del 30 al 50%. (Dixon 1981)

Descripción del patógeno

El género *Bremia* se distingue de otros miembros de la familia Peronosporaceae por poseer dilatados los extremos de sus esporangioforos, que se encuentran ramificados dicotómicamente (Mendoza, 1985; Agrios, 1985).

El micelio es intercelular y emite haustorios globosos pequeños en forma de perilla de 15 μm de largo y de 10 μm de diámetro. El micelio es cenocítico que varía de 5 a 12 μm de diámetro. El micelio se desarrolla con alta humedad relativa y una temperatura de 20 a 22 $^{\circ}\text{C}$, lo mismo sucede con la formación de haustorios (Dixon, 1981).

Los esporangioforos varían de longitud de 200 a 1200 μm , son ramificados dicotómicamente, emergen en grupos de 2 a 3 a través de los estomas, con los extremos de estas ramificaciones ensanchados en forma de disco, con esterigmas en los bordes (Mendoza 1999). La producción de los esporangioforos ocurre a temperaturas de 6 a 23 $^{\circ}\text{C}$ (Verhoeff, 1960).

Los esporangios son alimonados con una papila pequeña y germinan directamente, son hialinos ovoide-elipsoidal y globosos, con una longitud de 12 a 31 μm y un ancho de 11 a 275 μm (Davis et al., 2002). La germinación ocurre a temperaturas de 2 a 10 $^{\circ}\text{C}$ y agua condensada. Para el desarrollo de los tubos germinativos se da con temperaturas de 15 $^{\circ}\text{C}$ y rocío (Dixon, 1981).

Bremia lactucae es principalmente heterotálico, es decir necesita dos tipos de apareamiento B1 y B2 para la producción de oosporas, aunque también se han encontrado aislamientos homotálicos. Las oosporas son abundantemente producidas en los cotiledones u hojas artificialmente inoculadas con los dos tipos de apareamiento (Lebeda et al. 1990). Las oosporas son esféricas, con un diámetro de 27 a 30 μm y están rodeadas por una pared gruesa, la producción de oosporas conduce a la senescencia del hospedante (Davis et al. 2002).

Síntomas

Esta enfermedad es de importancia en los semilleros y en el campo en condiciones de temperaturas frescas y alta humedad. Se observan áreas irregulares de color verde claro y luego amarillas necróticas limitadas por las nervaduras de las hojas. Los primeros síntomas comienzan en las hojas viejas, se observa el crecimiento de un moho blanco en la parte inferior de la hoja asociada a estas manchas. En infecciones severas en el follaje toma un color marrón y muere, éste hongo sobrevive en residuos de cosecha y las esporas son diseminadas por el viento.

Epidemiología

Las fuentes principales de infección son la semilla, residuos de cosecha, malezas hospederas y campos cercanos infectados. El mildiú aparece en principio en focos pequeños que pasan desapercibidos con facilidad, en condiciones favorables el oomyceto se extiende por medio de esporas asexuales dispersadas por el viento o salpicaduras, causando ataques extensos de la noche a la mañana.

Davis *et al.* (2002), menciona que las principales fuentes de inóculo primario son: Semillas de lechuga, oosporas en desechos de plantas (Lebeda *et al.* 1990), inóculo que sobrevive en lechugas silvestres y esporangios de campos cercanos. El hongo causa síntomas localizados en las hojas de lechuga; es un biotrófico obligado y el primer síntoma de infección en la lechuga en condiciones óptimas es una esporulación blanca, principalmente en el envés de la hoja, a menudo, la esporulación viene precedida por un cambio de coloración de verde pálido a amarillo del área afectada.

En las hojas jóvenes la esporulación puede ser difusa en todo el envés, mientras que en las hojas maduras las lesiones tienden a estar limitadas por la nervadura principal, al envejecer las lesiones, los tejidos se empardecen y pueden pudrirse o hacerse quebradizos. Las plántulas jóvenes y en menor grado las maduras pueden ser colonizadas sistémicamente (Michelmore e Ingram, 1982). La germinación de los esporangios ocurre en películas de agua dando lugar a un tubo germinativo a temperatura de 0 y 21°C con un óptimo de 10°C cuando la duración de la humedad en las hojas es de 2 a 4 horas (Wu, *et al.* 2000).

La penetración, a las células epidérmicas a través de estomas, es rápida y puede ocurrir en solo 3 horas. Según la temperatura y la susceptibilidad de los tejidos, el oomyceto esporula en 5 – 14 días; la esporulación tiene lugar por la noche de 4 a 20 °C y requiere de 6 horas de oscuridad y una humedad relativa de aproximadamente de 95% (Smith, 1992). La alternancia de horas luz y oscuridad así como el grado de humedad provoca la esporulación.

Variabilidad genética de *Bremia lactucae*

Existen 20 razas de *Bremia lactucae*, 14 razas fueron aisladas en Holanda de la especie *Lactuca sativa* (NL razas, obtenidas del Instituto de Protección para las plantas, IPO-DLO), y las otras 6 razas fueron aisladas de la especie *Lactucae serriola* Checoslovaquia (Lebeda, 1984; Bonnier *et al.* 1994).

Medidas de control de *Bremia lactucae*

En Europa desde 1950 es utilizada la resistencia genética para el control de *Bremia* en lechuga. A partir de entonces se introducen uno o varios genes de resistencia a las variedades de lechuga, pero desgraciadamente van apareciendo razas fisiológicas del oomyceto que superan esta resistencia introducida. En Francia se han llegado a introducir resistencia hasta para 16 razas de *Bremia* en plantas de lechuga, pero esta resistencia puede ser vencida por nuevas razas que aparecen constantemente.

A campo abierto, se pueden citar como medidas aconsejables las siguientes:

- Efectuar una buena preparación el suelo. Es siempre deseable la existencia de drenaje.
- No plantar demasiado profundo
- Evitar el exceso de humedad, siempre es aconsejable regar en días soleados y si el método de riego moja las hojas, hacerlo siempre por la mañana para que tengan tiempo de secarse en el día.
- Utilizar planta sana.
- Mantener un ritmo de crecimiento uniforme evitando aceleraciones a causa de los abonados.
- Debe evitarse la repetición del cultivo así como la existencia de los restos del mismo cultivo anterior.
- Cultivar variedades resistentes.

Finalmente, la aplicación de productos químicos ha mostrados buenos resultados. Algunos de los más utilizados para el control de *Bremia* en lechuga se presentan a continuación:

INGREDIENTE ACTIVO	DOSIS	PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO
Benalaxil 6% + Cimoxanilo 3.2% + Folpet 35%	0.23-0.33%	Polvo mojable
Benalaxil 8% + Mancozeb 65%	0.20-0.30%	Polvo mojable
Captan 40% + Tiabendazol 17%	0.15-0.25%	Polvo mojable
Captan 85%	0.15-0.25%	Polvo mojable
Cimoxamilo 4% + Folpet 40%	0.30%	Polvo mojable
Etirimol 6% + Maneb 40%	0.30-0.60%	Suspensión concentrada
Mancozeb 60% + Metil tiofanato 14%	2-4 l/ha	Polvo mojable
Zineb 50%	0.40%	Suspensión concentrada

CAPITULO 2 DISTRIBUCION E INCIDENCIA DE *Bremia lactucae* EN MEXICO

El agente causal del Mildiu en el cultivo de la lechuga (*Bremia lactucae*) pertenece a la familia Peronosporaceae del Reino Stramenopila, donde se incluyen las algas de color café. A pesar de que esta enfermedad ha sido reportada en nuestro continente desde 1875, se carece de estudios que nos indiquen su distribución geográfica en México y la intensidad con la que se presenta en las principales variedades de lechuga cultivadas. En este capítulo se presentan los resultados de un muestreo realizado en la época del año cuando se presentan las condiciones óptimas para el desarrollo de *Bremia lactucae*. Durante el muestreo se georeferenciaron los puntos donde se evaluó la incidencia de la enfermedad además de confirmar la variedad de lechuga muestreada. Nuestros resultados permitieron confirmar la presencia del patógeno en los estados de Guanajuato, Zacatecas y Puebla donde la incidencia promedio fue 43.11%, 100% y 21.5% respectivamente. Las variedades de lechuga más cultivadas en estos estados fueron Sun Devil, Siskiyou y Coolguard. Sin embargo, las variedades con mayor intensidad de la enfermedad fueron Sun Devil, Yuma, Acropolis, Seminol, Paul Green y Valley Green, donde la enfermedad se presenta con una incidencia promedio de 100%. Nuestros datos permitieron definir que para la estación de invierno, *Bremia lactucae* tiene el potencial de afectar la parte norte del estado de Michoacán, Guanajuato, parte oriente de Jalisco, Aguascalientes, zona sur de Zacatecas y zona sur de San Luis Potosí.

Introducción

La lechuga se encuentra en cualquier época del año y como el resto de las hortalizas, es un buen abastecedor de vitaminas, minerales y sales indispensables para el organismo. La conciencia que existe por mantener la salud a través del mayor consumo de vegetales y frutas, ha provocado un mayor consumo de éstas, como es el caso de la lechuga, que por lo que toca a México, ha crecido constantemente en el campo de las exportaciones de este producto, principalmente a Estados Unidos de Norteamérica (Schwentesiuss, *et.al* 1997).

En México se cultivan de manera comercial los tipos de lechugas romana y larga u orejona. Dentro de estas, las variedades más comunes son: Cool Guard, Clímax, Marksman, Sedona, Salinas 88, 118 Asgrow, Bounty, 407, Warrior, Magnum, Salinas 128 y Del Rey, del tipo de las romanas, y Parrisland Cos de las orejonas. En nuestro país, cada variedad corresponde a una temporada de siembra, ya sea en verano o en invierno y para cada zona de producción.

Por ejemplo, en el estado de Puebla, las zonas de mayor producción son Tecamachalco, Palmarito, Acatzingo y Los Reyes (Ayala, *et.al* 2003) donde utilizan para la siembra de primavera (abril a septiembre) las variedades Top Gun, Annie, Warrior, Van Sal 210 y Patriot, entre otras; y para otoño (octubre a marzo) Honcho, Cool Breeze, Cool Guard, Shilo y Prime Time. Cada una de ellas tiene características que las diferencian entre sí, ya sea por su precocidad en la producción, dimensiones, color, etc. En general, la diferencia entre las de primavera y las de otoño radica en que las primeras se desarrollan más rápido que las segundas (hasta un mes más rápido), dependiendo de las condiciones de frío, que ocasionan trastornos y retraso en el desarrollo.

En Guanajuato sobresalen como principales áreas de producción de lechuga Irapuato, Cortazar, Villagrán y Apaseo El Grande (Ayala, *et.al* 2003) donde se utilizan variedades más pequeñas, tanto orejona como de la romana, siendo frecuentes las de tipo Gourmet en el caso de la primera, que no exceden los 25 cm de largo y la Iceberg en la segunda, que no excede los 15 cm de diámetro.

Desafortunadamente se tiene poca información respecto a la distribución del patógeno México. Ante esta necesidad, se realizaron muestreos en tres estados de la República Mexicana durante la época con las condiciones mas propicias para el patógeno. Durante los muestreos se confirmó la presencia del patógeno, se evaluó la intensidad de la enfermedad y con estos datos se elaboró un mapa con la región de nuestro país donde es posible encontrar al patógeno. Los objetivos de este capítulo fueron:

Objetivos

1. Confirmar la presencia del patógeno en la zona de estudio
2. Conocer la intensidad promedio de la enfermedad en tres estados y las variedades de lechuga de mayor uso.
3. Estimar la distribución e intensidad de *Bremia* en lechuga en la zona central de México.

Materiales y métodos

Sitios de muestreo

La colecta del material con síntomas de *Bremia* se realizó el 03 de octubre de 2008 en los estados de Guanajuato, Zacatecas y el 17 de diciembre del 2008 en el estado de Puebla. En el estado de Guanajuato se muestrearon los municipios de San José Iturbide y la Charca; en el estado de Zacatecas el municipio de Loreto, y en el estado de Puebla en los municipios de Acatzingo, Palmarito y Los Reyes de Juárez. Durante los recorridos se ubicó la posición geográfica de cada una de las parcelas muestreadas con ayuda de un equipo geoposicionador.

Intensidad de la enfermedad

Para calcular la incidencia de *Bremia* en campo se revisaron 40 plantas en al menos 2 puntos definidos al azar cada parcela muestreada. La incidencia se obtuvo al dividir la cantidad de plantas enfermas entre el total evaluado. Después se colectaron algunas muestras de las plantas que presentaban los síntomas característicos de la enfermedad. Al final se entrevistó al productor para conocer la variedad de lechuga plantada.

Muestras

Las muestras colectadas con los síntomas típicos de la enfermedad se colocaron dentro de bolsas de papel previamente etiquetadas con la ubicación de la parcela, variedad e intensidad y fueron introducidas en hieleras para mantener el tejido fresco y ser transportadas al laboratorio de Histopatología Vegetal del Colegio de Postgraduados. Una vez en laboratorio las muestras fueron divididas.

Una parte fue incubada en oscuridad y alta humedad relativa durante 4 días con la finalidad de inducir la esporulación del patógeno. La segunda parte se deshidrato paulatinamente para ser conservada y utilizada en posteriores experimentos.

Identificación del Patógeno

De las muestras colectadas se realizaron preparaciones semipermanentes en glicerol que fueron útiles para la confirmación de la presencia del patógeno. Los cuerpos fructíferos observados fueron comparados con las descripciones de Dixon, 1981; Agrios, 1985 y Mendoza 1999 para la identificación a nivel especie.

Mapeo

Los datos de ubicación geográfica e intensidad de la enfermedad fueron utilizados en el programa Surfer 6.0 para la obtención de los mapas de estimación de la distribución de la enfermedad en la zona centro del país. El método de Krigin se utilizó para estimar la presencia de la enfermedad en los estados del centro del país no muestreados.

Resultados y discusión

El patógeno fue confirmado en las muestras colectadas en campo (Figura 1). El oomiceto se caracterizó por tener micelio cenocítico con un diámetro de 8µm, esporangioforos ramificados dicotómicamente en forma de disco de copa, esporangios son alimonados con una papila pequeña, hialinos de forma ovoide-elipsoidal, con una longitud de 18 µm y un ancho de 100 µm, que de acuerdo a las descripciones de Dixon, 1981; Agrios, 1985 y Mendoza 1999, las características concuerdan con las de *Bremia lactucae*.



Figura 1. Síntomas típicos de *Bremia lactucae* en lechuga colectada en Puebla, México. Nótese que por el envés de la hoja se puede apreciar la esporulación del oomiceto.

El muestreo permitió conocer la intensidad de la enfermedad en los estados de Guanajuato, Zacatecas y Puebla en la parte fría del año. La enfermedad se presenta con mayor intensidad en el estado de Zacatecas, donde la incidencia promedio fue de 100%, seguido del estado de Guanajuato (43.11%) y Puebla (21.5%). Las principales variedades afectadas fueron Sun Devil, Yuma, Acropolis, Seminol, Paul Green y Valley Green, donde la enfermedad se presenta con una incidencia promedio de 100% (cuadro 1). Al parecer nuestras observaciones de alta intensidad de la enfermedad en las citadas variedades es un fenómeno fácilmente explicable al observar que no cuentan con genes de resistencia al patógeno (http://www.nysipm.cornell.edu/organic_guide/lettuce.pdf).

Cuadro 1. Sitios de muestreo, variedades colectadas e incidencia de *Bremia lactucae* en lechuga.

ESTADO	MUNICIPIO	VARIEDAD	INCIDENCIA
Guanajuato	San José de Iturbide	Costello	30%
		Sahara	25%
		Siskiyou	12%
		Sun Devil	100%
		Olmecca	10%
	La Charca	Top Billings	45%
		Magnum	30%
		Top Gun	20%
		Warrior	40%
		Raider	70%
Zacatecas	Loreto	Yuma	100%
		Acropolis	100%
		Seminol	100%
		Paul Green	100%
		Valley Green	100%
Puebla		Coolguard	10%
		Bubba	6%
		Puebla	10%
		Climax	60%

Al graficar los puntos georeferenciados y la intensidad de la enfermedad se observó que el mayor porcentaje de incidencia de la enfermedad se ubicó por arriba de los 18.00°N y 100.00W (Figura 2).

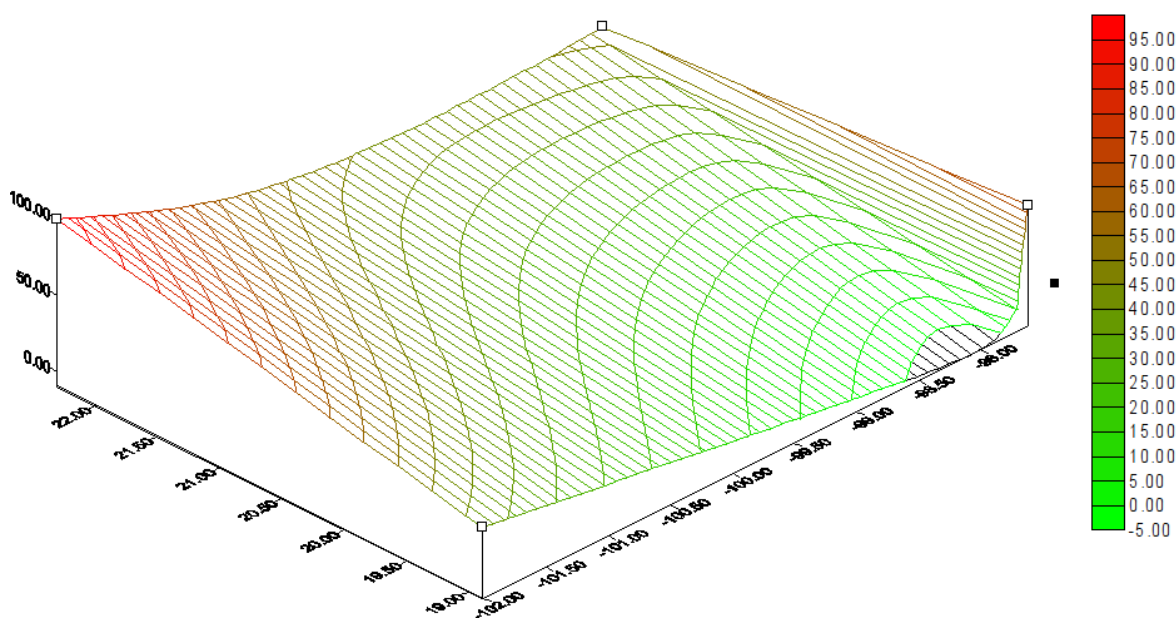


Figura 2. Intensidad de *Bremia lactucae* en la zona central de México de acuerdo a la latitud y longitud. La escala de la incidencia se presenta a mano derecha.

La figura 3 muestra la distribución de la enfermedad en los tres estados muestreados de acuerdo a la incidencia. El patógeno tiene el potencial de presentarse en los estados de Aguascalientes, Baja California, Distrito Federal, Guanajuato, Jalisco, México, Michoacán, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas donde se cultiva lechuga de manera comercial. Sin embargo, y de acuerdo a nuestros resultados, el mayor potencial de infección de *Bremia* en México se presenta en la parte norte del estado de Michoacán, Guanajuato, parte oriente de Jalisco, Aguascalientes, zona sur de Zacatecas y zona sur de San Luis Potosí durante el invierno de cada año. Desafortunadamente no existen referencias de la distribución de la enfermedad en

nuestro país, por lo que nuestros resultados podrán ser verificados conforme se realice investigación al respecto.

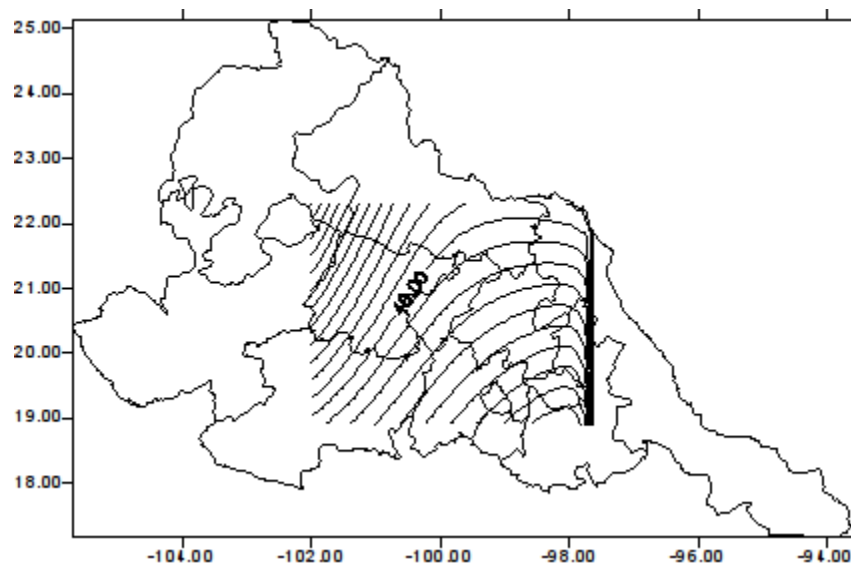


Figura 3. Estimación de la presencia y severidad de *Bremia lactucae* en la zona centro de México en base a un muestreo en Guanajuato, Zacatecas y Puebla.

Conclusiones

1. Se confirmó la presencia de *Bremia lactucae* en los estados de Guanajuato, Zacatecas y Puebla donde la incidencia promedio es 43.11% 100% y 21.5% respectivamente
2. Las variedades de lechuga más cultivadas durante los muestreos fueron Sun Devil, Siskiyou y Coolguard. Las variedades con mayor intensidad de la enfermedad fueron Sun Devil, Yuma, Acropolis, Seminol, Paul Green y Valley Green, donde la enfermedad se presenta con una incidencia promedio de 100%
3. Nuestros datos permitieron definir que para la estación de invierno, *Bremia* tiene el potencial de afectar la parte norte del estado de Michoacán, Guanajuato, parte oriente de Jalisco, Aguascalientes, zona sur de Zacatecas y zona sur de San Luis Potosí.

Literatura citada

- A.O.A.C. (Association of Oficial Analytical Chemist). 1990. Oficial Methods af Analisis, Arlington, Virginia. USA. 1102p.
- AGRIOS P.N. 2007. Fitopatología. Editorial Limusa. México, D.F. 838 P.
- Arias. S.E.,1998. Suatratos para la producción de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa*) cv. "Great Lakes 704" bajo condiciones de invernadero. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo
- ASERCA. 2000. Lechuga. En: Claridades Agropecuarias No. 69 SAGAR, México.
- Achar, P.N. 1996. First report of downy mildew disease in lettuce caused by *Bremia lactucae* in Natal Southern Africa. Departament of Microbiology, University of Durban Westville, Private Durban, South Africa. Plant Disease 80: 464 – 466.
- Baron, C.; Bares,C. Maradei, F. and Sánchez, G. 1996. Poscosecha de lechuga. Boletín Hortícola, octubre 28-32
- Bonnier. F.J., M.K. Reniik, and R. Groenwold, 1994. Genetic Analysis of lactuca. Accesions with new major gene resistance to lettuce downy mildew. Phytopathology 5: 462 – 467.
- Brackett, R. 1997. Alteraciones microbiológicas y microorganismos patógenos de frutas y hortalizas refrigeradas mínimamente procesadas. En: Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas. Wiley, R. Ed. Acribia, Zaragoza, España, 263-304.

Cantwell M y T. Suslow. 2000. Lechuga de cabeza o arrepollada (Crisphead o Iceberg): Recomendaciones para mantener la calidad poscosecha. Department of Vegetable Crops, University of California Davis, C.A. Traducido por Reinaldo

Campos. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Santiago de Chile.

Crute I. R. The host specificity of peronosporaceous fungi and the genetics of the relationships between host and parasite. In: Spencer DM, ed. The downy Mildews,

Academic Press, London, 1981: 237 -253. Crute I.R. 1988. *Bremia lactucae*. Regel. In European Handbook of planta diseases 78: 854- 857.

Couture., R, Cantwell,M.I.,Ke,D. and Saltveit Jr.,M.E. 1993. Physiological attributes related to quality attributes and storage life of minimally processed lettuce. HortScience 28(7): 723-725.

Davis M.R., K. V. Subbarao, R.N. Raid and A. E. Kurts. 2002. Plagas y enfermedades de la lechuga. The American Phytopathological Society. 75pp.

Dixon,G.R. 1981. Vegetable crop disease. Horticultura. Division School of Agricultura. Aberden. O.K. 215- 221 PP.

Garza, L.J.M. 1985. Las hortalizas cultivadas en México: Su importancia. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo .

Gazula, A.; Kleinhenz, M.D.; Schheerens, J.C.; Ling,P.P. & Streeter, J.G. 2004. Temperature and genotype affect anthocyanin concentrations in lettuce (*Lactuca sativa*). HortScience 39 (4): 864.

Johnson R. 1984 A critical analysis of durable resistance. Annual Review of Phytopathology 22: 309 – 330.

- Krarrup, C.; Lipton, W. & Toledo, J. 1987. Primer curso internacional de postcosecha de hortalizas Mercado Central de Buenos Aires, Argentina. 433p.
- Lata, B. and Przeradzka, M. 1999. Glutathione and ascorbate contents in broccoli and lettuce cultivars. *Folia Horticulturae* 11(2):13-22.
- Lebeda A. 1984. Race – specific factors of resistance to *Bremia lactucae* in the world assortment of lettuce. *Scientia Horticulturae* 22: 23-25
- Lebeda A, Pink DAC, Mieslerovora B. Aspects of the interactions between wild *Lactuca spp.* And related genera and Lettuce Downy Mildew (*Bremia lactucae*) In:
Spencer – Phillips PTN, Gisi U,
- Lebeda A, eds. *Advances in Downy Mildew Research*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2002: 85 -117.
- Lebeda A, and Blok I. Sexual compatibility types of *Bremia lactucae* isolates originating from *Lactuca serriola*. In: *Neth. J.Pl.* 96 1990 (51 -54)
- Lebeda, A. ; Sedlářová, M. ; Lynn, J. ; Pink, D. A. C. 2006. Phenotypic and histological expression of different genetic backgrounds in interactions between lettuce, wild *Lactuca spp.*, *L. sativa* x *L. serriola* hybrids and *Bremia lactucae*. *European Journal of Plant Pathology* : 115 : 431-441
- Maroto B.J. 1989. *Horticultura (Herbacea especial)*. Ediciones Mundiprensa. Madrid, España 566 p.
- Mallar A. 1978. *La lechuga*. Edit. Hemisferio sur. Buenos Aires.

- Mendoza Z.C. 1999. Diagnostico de Enfermedades Fungosas. Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. 168pp.
- Michelmore , R.W. and D.S. Ingram, 1982. Secondary homothallism in *Bremia lactucae*. Trans. Br. Mycol, 78, 1.
- Pérez, G.M., F. Márquez S., y A. Peña L. 1997. Mejoramiento genético de hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. 380 p.
- Ryder, R.J. 1979, Leafy salad Vegetables. AVI Publisging Co., Wesport.
- Salvtveit, M. 1997. A summary of CA and MA requirements and recommendations for harvest vegetables. In. Salveit, M.E. Proceedings of 7th International Controlled Atmosphere Conference, vol.4, Postharvest Outreach Program, University of California, Davis, C.A.,pp. 98-117.
- Smith I.M. 1992. Manual de enfermedades de las plantas. Trad. Francisco García Arenal. Editorial Mundi prensa. Madrid, España. Pp. 265 -267.
- Sommer, N.F. 1992. Principles of disease suppression by handling practices. In Kader, A.A. Postharvest technology of horticultural crops. Coop. Ext., University of California, USA. Publ. 3311, p. 109-116.
- Su, H. ; Bruggen, A. H. C. van ; Subbarao, K. V. 2000. Spore release of *Bremia lactucae* on lettuce is affected by timing of light initiation and decrease in relative humidity. *Phytopathology* : 90 : 67-71.
- Verhoeff, K.K 1960. On the parasitism of *Bremia lactucae* Regel on lettuce, 66: 133- 144

Walker, C.J. 1965. Patología Vegetal. Trad. Antonio Aguirre Azpeitia. Ed. Omega, S.A. Barcelona, España, pp. 231 – 238.

Watada, A.E. and Qi, L. 1999. Quality control of minimally-processed vegetables, Acta Horticulturae. 483:209-220.

Wu, B.M., Subarraraou, K.V., and Bruggen, A.H.C. 2000. Factors affecting the survival of *Bremia lactucae* sporangia deposited on lettuce leaves. Phytopathology 90:827 – 833.

CAPITULO 3 CARACTERIZACIÓN MULTIVARIADA DE 18 VARIEDADES DE LECHUGA

Introducción

La calidad comprende la totalidad de los rasgos y características de un producto que guarda relación con la capacidad de satisfacer una necesidad determinada. Es una combinación de las características, atributos y propiedades que le dan valor en la alimentación humana. La calidad de los productos hortícolas puede ser estudiada en función de cuatro componentes intrínsecos: higiénico-sanitaria, nutricional, tecnológica y organoléptica (Kader, 2002).

La calidad puede dividirse en interna y externa. La primera es aquella relacionada con aspectos menos perceptibles como valor nutritivo, inocuidad, sabor, textura y contenido de azúcares, aceites y proteínas. La calidad externa es aquella vinculada a características visibles como: color, forma, uniformidad, estado de madurez y presencia de defectos (Gaviola, 1996).

En aquellas especies en donde la inflorescencia es el órgano comercializado tales como brócoli o coliflor o aquellas que forman cabeza como lechuga, repollo, endivia, etc. el grado de compactación es el aspecto de mayor relevancia y en general es un indicador del grado de desarrollo a la cosecha ya que las inflorescencias abiertas indican que fueron cosechadas posteriormente al momento óptimo mientras que las «cabezas» no compactas son consecuencia de una cosecha prematura. En cierta medida es también un indicador de la frescura ya que la compacidad disminuye con la deshidratación (Cook, 1998).

La uniformidad es un concepto que se aplica a todos los componentes de la calidad (tamaño, forma, color, madurez, compacidad, etc.). La ausencia de defectos conjuntamente con la frescura y la uniformidad son los principales componentes de la apariencia

Dentro de los parámetros que definen la frescura y madurez, el color, tanto en intensidad como en uniformidad, La pérdida del color verde es un indicador de senescencia, el color también es un indicador de la madurez, mientras que el tamaño es uno de los principales indicadores del momento de cosecha y en muchos casos está directamente asociado a otros aspectos de la calidad como el sabor o textura (Cook, 1997).

El brillo realza el color de la mayor parte de los productos, En hortalizas el brillo está asociado en cierta manera a la turgencia: un verde brillante es uno de los indicadores de la frescura.

La firmeza se usa principalmente como índice de cosecha y es medido con instrumentos que registran la fuerza necesaria para una determinada deformación o resistencia a la penetración de un émbolo de dimensiones conocidas (Mitcham, *et.al* 1998).

En frutas y hortalizas, el sabor se expresa normalmente en términos de la combinación de principios dulces y ácidos, la que es un indicador de la madurez y de la calidad gustativa. El contenido de sólidos solubles es una buena estimación del contenido de azúcares totales y muchos frutos deben contener un contenido mínimo de sólidos para ser cosechados (Kader, 1998).

Debido a las exigencias del mercado en cuestión de calidad, se tiene la necesidad de buscar y caracterizar las nuevas variedades de lechuga creadas por la industria que cumplan con los requerimientos mínimos que el consumidor busca, además de que cumpla con las características del mercado, sea también resistente a los patógenos que afectan la producción de esta hortaliza (Dennis, 1985). En este sentido, el presente capítulo pretende describir a 18 variedades de lechuga creadas por la industria en función de múltiples variables de calidad evaluadas con los siguientes objetivos.

Objetivos

- Determinar 10 variables de calidad postcosecha en 18 variedades de lechuga.
- Realizar un análisis multivariado para agruparlas en base a sus características.
- Identificar cuáles de ellas tiene mejores características de calidad y producción.

Materiales y métodos

Cultivo

Para este experimento se utilizaron las variedades de lechuga Yuma, Costello, Grizzly, Honcho II, Rhino, Top Billings, Warrior, Magnum, Annie, Cool Guard, Denver, Raider, Stallion, Top Gun, Sure Shot, Niner, Red Coach y 9852. Las 18 variedades de lechuga fueron sembradas en la estación experimental de SEMINIS ubicada en Apaseo el Grande, Guanajuato, el 28 de noviembre del 2007, trasplantándose un mes después (28 de diciembre de 2007), con un diseño completamente al azar, en diez surcos por material de 10m de largo, con cinco repeticiones. Las variedades de lechuga fueron fertilizadas con la fórmula 280-60-220. Se usaron 1.2 galones/hora para los riegos diarios durante una hora durante los primeros 5 días después del trasplante, posteriormente fueron cada tercer día con una hora de duración durante un periodo de 56 días.

Cosecha

La cosecha de cada una de las variedades evaluadas se realizó el 28 de febrero del 2008. Al momento de la cosecha se tomaron 5 plantas aleatoriamente de cada una de las 5 repeticiones de cada uno de los materiales, los cuales fueron transportados en hieleras al laboratorio del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo para evaluar las variables de calidad.

VARIABLES DE CALIDAD

Las variables de calidad evaluadas fueron: Peso, Diámetro, Forma, Presencia o ausencia de costillas, Tamaño del tallo, Presencia o Ausencia de Tip Burn, Firmeza, Sólidos solubles totales, Acidez titulable y Clorofila.

El peso se determinó en cada uno de los individuos colectados de las 5 repeticiones con ayuda de una balanza digital. El diámetro se obtuvo de los mismos individuos al determinar el diámetro polar y el ecuatorial. La forma se determinó de manera visual con solo dos categorías: oval o redonda. De la misma manera se anotó cuando las nervaduras de las hojas fueron sobresalientes (presencia de costillas) o no (ausencia de costillas). Para determinar la longitud de tallo, los ejemplares fueron cortados a la mitad y con ayuda de una navaja para después definir la longitud del tallo con una cinta métrica. Una vez disectadas las plantas se observó si había presencia de coloración café en la punta (tip burn). La firmeza de la cabeza se determinó quitando las primeras hojas que envuelven la lechuga y utilizando un penetrometro tipo Chatillon de punta cónica para definir la fuerza necesaria para penetrar la cabeza de lechuga, reportándose los valores en Newtons ($N = \text{kgf} \times 9.8$). Los sólidos solubles totales se evaluaron directamente tomando una gota del tejido filtrado y colocándolo en el refractómetro digital para expresar los resultados en grados Brix.

La acidez titulable se evaluó mediante la metodología propuesta por la A.O.A.C. (1990), para ello se pesaron 10 g de hoja de lechuga de cada una de las repeticiones, se agregaron 50mL de agua destilada y posteriormente se licuó. Se midió el volumen obtenido, depositándolo en un vaso de precipitado, tomando una alícuota de 10 mL de la solución y se tituló con NaOH al 0.1N, utilizando como indicador 3 gotas de fenolftaleína. La acidez titulable se calculó con la siguiente fórmula:

$$\%ACIDO = \frac{(mL \text{ de NaOH gastados}) (N \text{ NaOH}) (Meq \text{ de ácido})(V)(100)}{\text{Peso de la muestra (alícuota)}}$$

N= Normalidad (0.1N)

V= Volumen total (mL de agua + g de tejido)

El color se evaluó mediante un colorímetro para definir los tres parámetros L*, a* y b* [L= luminosidad, a= ángulo de tono (hue), b= pureza del color (chroma)]. Para determinar la clorofila total, se pesaron 10 g de tejido colocándolos en frascos, se agregó a cada uno 20 mL de acetona al 80% y se colocaron en refrigerador durante 24 horas, después se filtró el contenido (papel filtro whatman #1) con NaCO₃ enjuagando la muestra y aforando hasta 25mL. Finalmente se tomaron lecturas a las siguientes absorbancias a 476, 663 y 646nm. El contenido total de clorofila se calculó con la siguiente fórmula:

$$Ct = 7.15 A_{663} + 18.71 A_{646}$$

Análisis estadístico

Los resultados de las cinco repeticiones fueron útiles para calcular los promedios de cada variedad. Los promedios se utilizaron para llevar a cabo un análisis de multivariado por conglomerados (cluster análisis) por el método de Wart en el paquete estadístico SAS versión 9.0. El dendograma de los grupos se elaboró con los resultados de similitud obtenidos.

Resultados y discusión

Los cuadros 1-3 muestran los promedios de las variables de calidad evaluadas en este experimento. Como se puede observar, en cuanto a la variable de peso, las variedades Warrior, Niner, Grizzli y 9851 tienen un peso en promedio de 620 g, al igual se caracterizan por tener una forma redonda y ausencia de costillas. Las variedades de mayor peso son Costello, Rhino, Denver, Top Billings, Magnum y Sure Shot, ya que en promedio pesan más de 825 g, en cuanto al problema de tip burn, se puede mencionar que las variedades donde se presentó este problema fueron Annie, Honcho, Coolguard, Raider, Redcoach, Yuma, Stallion y Top gun. También se puede observar que las variedades con mayor firmeza son Denver, Magnum y 9851.

Cuadro 1. Evaluación de ocho variables de calidad evaluadas en 18 variedades de lechuga el 28 de febrero del 2008. Se presentan los promedios de cinco repeticiones por tratamiento.

Variedad	Peso (g)	Diámetro		Costillas (Proporción)	Sin costillas (Proporción)	Longitud de tallo (cm)	Tipburn (proporción)	
		ecuatorial (cm)	Forma redonda (proporción)					
9851	639.73	14.03	0.63	0.36	0.40	0.60	3.78	0
Anie	707.66	12.90	0.20	0.80	0.16	0.83	4.10	0
Coolguard	676.73	16.56	0.26	0.73	0.60	0.40	4.28	0
Costello	793.60	13.66	0.30	0.70	0.13	0.86	3.76	0
Denver	844.43	15.30	0.26	0.73	0.33	0.66	4.32	0
Grizzly	776.80	14.80	0.50	0.50	0.33	0.66	2.53	0
Honcho	675.70	13.90	0.03	0.96	0.10	0.90	4.71	0.13
Magnum	897.96	14.80	0.66	0.33	0.30	0.70	5.44	0.10
Niner	616.20	11.53	0.20	0.80	0.13	0.86	3.88	0
Raider	702.50	12.46	0.16	0.83	0.06	0.93	4.16	0
Red	753.96	14.50	0.46	0.53	0.33	0.66	3.67	0.03
Rhino	816.03	16.00	0.40	0.60	0.26	0.73	6.50	0

Stallion	776.13	13.43	0.10	3.90	0	1	3.07	0
SureShot	860.90	15.06	0.56	0.43	0.26	0.73	4.20	0.07
TipBillings	810.66	14.66	0.23	0.76	0.26	0.73	4.25	0.03
TopGun	769.73	14.23	0.46	0.53	0.33	0.66	3.52	0
Warrior	815.40	14.13	0.56	0.43	0.16	0.83	4.92	0
Yuma	777.76	16.86	0.76	0.23	0.40	0.60	3.3	0

Cuadro 2. Evaluación de ocho variables de calidad evaluadas en 18 variedades de lechuga el 29 de febrero del 2008. Se presentan los promedios de cinco repeticiones por tratamiento.

Variedad	Peso (g)	Diámetro		Forma oval (proporción)	Costillas (Proporción)	Sin costillas (Proporción)	Longitud de tallo (cm)	Tipburn (proporción)
		ecuatorial (cm)	Forma redonda (proporción)					
9851	772.06	13.70	1	0	0.33	0.66	4.28	0
Anie	912.23	13.63	0.23	0.76	0	1	3.84	0
Coolguard	865.33	14.77	0.16	0.83	0.20	0.80	4.62	0.10
Costello	962.53	14.36	0.23	0.76	0.13	0.86	4.83	0
Denver	912.10	15.03	0.46	0.53	0.03	0.96	4.06	0.20
Grizzly	704.17	14.82	0	1	0.40	0.60	4.33	0
Honcho	911.50	14.13	0.10	0.90	0.16	0.83	6.18	0
Magnum	974.90	14.90	0.43	0.56	0.20	0.80	5.85	0
Niner	670.66	11.50	0.03	0.96	0	1	3.48	0
Raider	873.86	12.43	0	1	0	1	4.34	0.03
Red	923.63	15.56	0.26	0.73	0.13	0.86	4.68	0
Rhino	990.53	15	0.40	0.60	0.33	0.66	5.23	0
Stallion	877	13.93	0.33	0.66	0.16	0.83	4.26	0
SureShot	965.13	16.53	0.30	0.70	0.23	0.76	4.75	0
TipBillings	915.63	15.33	0.03	0.96	0.70	0.30	3.85	0.10
TopGun	890.26	14.30	0.10	0.90	0.10	0.90	4.42	0

Warrior	764.46	15.16	0.56	0.43	0.23	0.76	3.91	0
Yuma	935.90	15.73	0.23	0.76	0.13	0.86	4.95	0.13

Cuadro 3. Evaluación de tres variables de calidad evaluadas en 18 variedades de lechuga. Se presentan los promedios de cinco repeticiones por tratamiento.

Variedad	Firmeza	Solidos solubles	Clorofila total
9851	34.06	0.70	0.70
Anie	31.40	0.56	0.53
Coolguard	23.10	0.70	0.56
Costello	34.20	0.72	0.40
Denver	38.37	0.68	0.46
Grizzly	25.71	0.76	0.63
Honcho	33.56	0.62	0.45
Magnum	40.94	0.62	0.97
Niner	29.64	0.74	1
Raider	30.24	0.70	0.82
Red	22.25	0.60	0.92
Rhino	33.40	0.76	0.43
Stallion	41.34	0.60	0.69
SureShot	29.04	0.70	0.96
TipBillings	26	0.70	0.69
TopGun	37.08	0.70	0.66
Warrior	38.40	0.62	0.33
Yuma	22.26	0.72	0.48

La figura 1 muestra el dendrograma resultado del análisis multivariado por conglomerados (cluster analysis) donde se pueden observar que las variedades de lechuga forman tres grupos (clusters). En el primer grupo se encuentran las

variedades 9851, Niner, Grizzli y Warrior, que se diferencian de los otros grupos por un peso promedio de 600g, forma redonda, sin costillas y sin presencia de tip burn. En el segundo grupo se encuentran las variedades Annie, Honcho, Coolguard, Raider, Red Coach, Yuma, Stallion y Top Gun, que se diferencian de los otros dos grupos por un peso promedio de 700g, tener forma oval, con costillas y presentar tip burn. En el último grupo se encuentran las variedades Costello, Rhino, Denver, Top Billings, Magnum y Sure Shot, las cuales se diferencian de los otros grupos por pesar más de 800g.

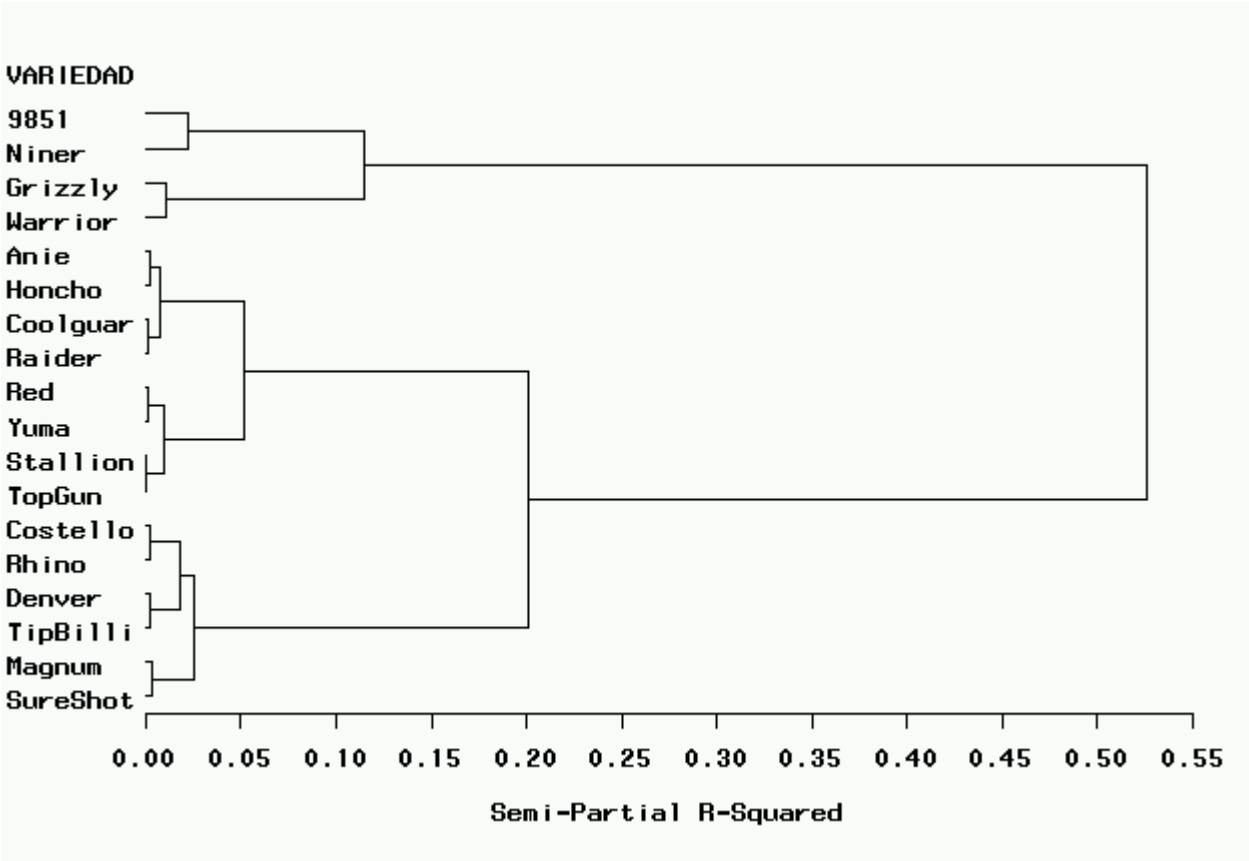


Figura 1. Dendrograma resultado del análisis multivariado de diez variables de calidad evaluadas en 18 variedades de lechuga. Se aprecian tres grupos que se diferencian entre ellos en base a peso, forma, costillas y presencia de tip burn.

Conclusiones

1. Se observaron tres grupos utilizando 10 variables de calidad. En el primer grupo se encuentran las variedades 9851, Niner, Grizzli y Warrior. En el segundo grupo se encuentran las variedades Annie, Honcho, Coolguard, Raider, Red Coach, Yuma, Stallion y Top Gun. Y en el tercer grupo se encuentran las variedades Costello, Rhino, Denver, Top Billings, Magnum y Sure Shot.

Literatura citada

- Cook, R. 1997. The U.S. food industry: some keys trends and marketing strategies. Perishables Handling Newsletter, UCD, 89:2-5.
- Cook, R. 1998. The future of fresh cut. En: Fresh-cut products: maintaining quality and safety. Postharvest horticulture series no. 10.
- Chiesa, A. 2003. Factors determining lettuce (*Lactuca sativa* L.) postharvest quality. Acta Horticulturae 2(604): 519-524
- Dennis, C. 1985. Fungi: Postharvest physiology of vegetables. J. Weichmann (Ed.) Marcel Dekker, Inc., New York. Chapter 19: 377-411.
- FAO, Oficina Regional para América Latina y el Caribe. 1989. Manual para el mejoramiento del manejo postcosecha de frutas y hortalizas. Parte II. Control de calidad, almacenamiento y transporte. 83 pp.
- Gaviola, S. 1996. Factores de manejo que inciden sobre la calidad de las hortalizas. Avances en horticultura 1:4-18.

Kader, A. A. 1998. Flavor Quality of fruits. En: Management of fruit ripening. A. A. Kader (Ed.). Postharvest horticulture series no. 9. Postharvest outreach program, Department of Pomology, University of California, Davis.

Kader, A. 2002. Postharvest Technology of Horticultural Crops. 3rd Edition. Publication 3311. University of California, USA, 514 p.

Mitcham, B. and A. A. Kader. 1998. Methods for determining quality of fresh horticultural commodities. En: Fresh-cut products: maintaining quality and safety. Postharvest horticulture series no. 10.

CAPITULO 4. RESISTENCIA DE 19 VARIEDADES DE LECHUGA A *Bremia lactucae*

Introducción

El mildiu de la lechuga es un patógeno muy variable. Dentro de una misma plantación, pueden estar presentes más de una raza. Después de los años 60, se han creado variedades que poseen genes de resistencia a *Bremia lactucae*, estos genes específicos son denominados genes Dm, que protegen a las lechugas frente a ciertas cepas que no poseen los factores de virulencia correspondientes. Las interacciones entre el hongo y la lechuga se representan por tablas de espectros de virulencia del hongo. Estas tablas dan para cada gen de resistencia en lechuga, el comportamiento de cada cepa de *B. lactucae* descrita (Wu *et al.*, 2005). El cuadro 1 presenta las cepas de *B. lactucae* identificadas en Europa de 1960 a 1990. Esta tabla es la base de los seleccionadores de nuevos genes de resistencia (Bonnier, 1994).

Cuadro 1. Espectros de virulencia de las cepas de *B. lactucae* caracterizadas en los Países Bajos entre 1960 y 1990.

Estrategias de resistencia	Cepas NL de <i>B. lactucae</i>	Cepas de resistencia utilizadas: n° de genes Dm															
		1	2	3	4	5/8	6	7	10	11	13	14	15	16	18		
Años 1960 <i>Dm2, Dm3, Dm7</i>	NL1	+	■	●	+	-	-	●	+	■	+	+	-	■	■		
	NL2	+	■	■	+	+	+	●	+	■	+	+	-	■	■		
	NL3	-	●	●	-	+	+	■	+	■	+	+	+	■	■		
	NL4	+	■	●	+	+	-	■	+	■	+	+	-	■	■		
Años 1970 <i>Dm7, Dm11, con Dm2/Dm3</i>	NL5	+	●	+	?	-	-	+	+	●	+	?	+	■	■		
	NL6	+	+	●	+	+	-	●	+	■	+	+	-	■	■		
	NL7	+	+	+	+	-	+	+	+	●	+	+	?	■	■		
Años 1980 <i>Dm2, Dm3, Dm7, Dm11 con Dm6/Dm16</i>	NL10	+	+	+	+	+	■	+	+	●	+	+	-	●	■		
	NL11	+	●	●	-	+	■	+	+	●	+	+	+	■	■		
	NL12	+	●	●	+	+	■	+	+	+	+	+	+	■	■		
	NL13	+	●	+	-	+	●	●	+	+	+	+	-	●	■		
	NL14	+	+	+	+	+	■	●	+	+	+	-	-	●	■		
	NL15	+	+	+	+	+	●	+	+	+	+	-	-	●	■		
NL16	+	+	+	+	+	■	+	+	+	+	?	-	■	■			

+: Reacción compatible (esporulación);

-: Reacción incompatible (resistencia);

■ genes Dm utilizados en selección y superados por la cepa;

● genes Dm utilizados en selección y eficaces frente a la cepa;

■ genes Dm eficaces frente a todas las cepas identificadas durante la década.

Durante la década de los 60, los genetistas utilizaron los genes de resistencia Dm2, Dm3 y Dm7, individualmente o combinados. En el cuadro 1 se observa que el gen Dm2 confiere a una resistencia al patotipo NL3, pero es superado por las cepas NL1, NL2, NL4. Igualmente el gen Dm3 proporciona a las variedades la resistencia a NL1, NL3 y NL4, pero es superado por la cepa NL2. En cuanto al gen Dm7, es eficaz con respecto a NL1 y NL2, pero es superado por patotipos NL3 y NL4. Así al final de la década, se encuentran cepas de *Bremia* capaces de superar a cada uno de los genes utilizados en las variedades comerciales. Debido a esto se tiene la necesidad de buscar genes de resistencia como el Dm11, que protege a las variedades que lo poseen contra las cepas NL1 a NL4. No obstante la utilización de esta resistencia favoreció la aparición y la extensión de las cepas tipo NL6 que superan al Dm11. El gen Dm16, confiere resistencia a las cepas NL1 a NL7, pero cepas del tipo NL11 y NL12 ponen en cuestión a este gen (Braz, *et.al.* 2007).

Al principio de los años 90, sólo una resistencia era eficaz contra las cepas NL1 a NL16 identificadas en Europa, esta resistencia se denominó R18 (Cuadro 2), a final de esta década, se han citado ataques de mildiu en varias regiones de Europa sobre ciertas variedades declaradas resistentes a NL1 a NL16.

Cuadro 2. Espectros de virulencia de las cepas de *Bremia* aparecidas en Europa en los años 90

Cepas NL o BI de <i>B. lactucae</i> ⁽¹⁾	Variedades y genes <i>Dm</i> o factores <i>R</i> de resistencia ⁽²⁾																		
	Lednický	UCDM2	Dandie	R4T57	Valmaine	Sabine	LSE57/15	UCDM10	Capitan	Hilde	Pennlake	UCDM14	PIVT1309	LSE/18	16	18	36	37	38
NL15	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
BI: 16 = NL16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-?	-	+	■	-	-	-	-
BI: 17	-	+	+	●	+	●	+	+	●	+	+	+	+	●	■	■	-	■	-
BI: 18	+	+	●	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	■	■	-	-	-
BI: 19	+	+	+	+	+	+	●	+	+	+	+	+	-	●	■	-	-	-	■
BI: 20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	■	■	-	-	-
BI: 21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	■	-	■	■	-
BI: 22	+	+	●	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	●	■	■	-	-	-
BI: 23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	■	-	-	-	■

⁽¹⁾ Las cepas europeas se llamaban NL ya que su descripción se había hecho en un laboratorio de Holanda. Ahora, para subrayar los diversos orígenes de las cepas, la sigla BL se ha adoptado por *Bremia* de la Lechuga.

⁽²⁾ Los genes de resistencia se llaman *Dm* (por *Downy mildew*) cuando están bien caracterizados (1 único gen). Los factores de resistencia debidos a un carácter genético no bien definidos genéticamente (posibilidad de grupos de genes) se llaman *R* (por *Resistencia*).

+: Reacción compatible (esporulación);

-: Reacción incompatible (resistencia);

■ genes *Dm* utilizados en selección y superados por la cepa;

● genes *Dm* utilizados en selección y eficaces frente a la cepa;

■ genes *Dm* eficaces frente a todas las cepas identificadas durante la década.

Los patotipos BI:17, BI:18, BI:20 y BI:22, aparecidos en Europa del Norte (Suecia, Gran Bretaña, Alemania y Benelux respectivamente), superan la resistencia de R18, pero R36 y R38 son eficaces para luchar contra estas razas. Las cepas BI:19 y BI:21 han aparecido en Italia, tras la aparición de estas cepas, cepas de espectros cercanos han sido citadas en algunas regiones de Francia. Ante este riesgo, los laboratorios de investigación continúan buscando nuevas resistencias. En enero del 2010, el IBEB (International Bremia Evaluation Board) identificó la raza BI:27, la cual rompe la resistencia conferida en las variedades resistentes a las razas B1: 1-26 (Lebeda, 2004). A pesar de todo este conocimiento y su utilización para la creación de nuevas variedades de lechuga, en México se desconoce respecto a las razas presente y las variedades que presentan resistencia a esas razas, por lo que los objetivos de este capítulo son:

Objetivo

Caracterizar 18 variedades de lechuga en términos de resistencia a las razas de *Bremia* presentes en México.

Materiales y métodos

Sitios de muestreo

La colecta del material con síntomas de *Bremia* se realizó del 03 de octubre de 2008 en los estados de Guanajuato, Zacatecas y el 17 de diciembre del 2008 en el estado de Puebla. En el estado de Guanajuato se muestrearon los municipios de San José Iturbide y la Charca; en el estado de Zacatecas el municipio de Loreto, y en el estado de Puebla en los municipios de Acatzingo, Palmarito y Los Reyes de Juárez. Durante los recorridos se ubicó la posición geográfica de cada una de las parcelas muestreadas con ayuda de un equipo geoposicionador (Capítulo 2).

Identificación morfológica

De las muestras colectadas se realizaron preparaciones semipermanentes en glicerol que fueron útiles para la confirmación de la presencia del patógeno. Los cuerpos fructíferos observados fueron comparados con las descripciones de Dixon, 1981; Agrios, 1985 y Mendoza 1999 para la identificación a nivel especie.

Identificación molecular

Una vez que las muestras colectadas esporularon, se procedió a colectar el micelio del tejido con un asa bacteriológica. Para la extracción de ADN de *Bremia lactucae* se utilizó el kit de QIAGEN, siguiendo el protocolo de la empresa (Anexo 1).

La amplificación de las regiones ITS1 e ITS2 de los genes ribosomales (rRNA), localizadas entre la subunidad pequeña 18S rRNA-5.8S y la subunidad larga 5.8S-28S rRNA, se efectuó mediante la técnica de PCR utilizando los iniciadores universales ITS4 (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) e ITS5 (GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAC G (White *et al.*,1990). La amplificación se realizó según protocolo de Ahrens y Seemüller (1992): 25µL [agua ultrapura estéril (13.22µL), solución amortiguadora TBE 1X (2.5µL) MgCl₂ a 2.5mM (2.08µL dNTPs a 0.2 mM (2µL), iniciadores ITS4 e ITS5 a 20 pmol (2µL de cada uno), DNA polimerasa (Biogénica® a 1U (0.2 µL) y muestra problema de ADN a 80ng (1µL)]. El producto amplificado fue purificado con el kit Wizard (Promega®) y enviado para secuenciación a Macogene® en Seúl Corea del Sur. La secuencia obtenida se alineo con la base de datos del banco de genes del National Center for Biotechnology Information (NCBI, 2009) (www.ncbi.nlm.nih.gov). De los valores generados, se consideró la mayor similitud para su comparación con la secuencia de estudio. La secuencia obtenida fue enviada al banco de genes del National Center for Biotechnology Information para su registro.

Incremento del inóculo y purificación

Se trasplantaron plántulas de lechuga procedentes de Palmarito, Puebla a macetas de unisel. Se utilizó como sustrato Peat moss. Las plántulas se colocaron en invernadero y después de 15 días del trasplante se inocularon con una suspensión de esporas procedentes de cada una de las colectas realizadas, la inoculación se hizo mediante la aspersion de esta suspensión directamente sobre las plantas sanas, colocando un humidificador durante 6 horas diarias, propiciando de esta manera las condiciones ambientales que favorecieran la aparición del oomyceto.

Inoculación

Las variedades evaluadas fueron: Yuma, Costello, Grizzly, Honcho II, Rhino, Top Billings, Warrior, Magnum, Annie, Cool Guard, Denver, Raider, Stallion, Top Gun, Sure Shot, Niner, Red Coach y 9852 cada una de ellas se sembró con 5 repeticiones en macetas, las plántulas fueron inoculadas con una concentración de 1×10^4 esporas /mL de manera manual con un atomizador. Las plantas se colocaron en un invernadero con un humidificador durante 6 horas diarias, propiciando de esta manera las condiciones ambientales que favorecieran la aparición del hongo.

Resultados

De las muestras colectadas, se realizó la extracción de ADN, el producto amplificado se muestra en la figura No 5, de las cuales las muestras 51 a la 68 corresponden a los sitios muestreados (cuadro 3).

Cuadro 3. Origen y variedad de *Bremia* colectado en este estudio y enviadas a secuenciar.

MUESTRA	Variedad donde se colectó	MUESTRA	Variedad donde se colectó
51	CR1	60	Olmecca
52	CR2	61	Raider
53	CR4	62	Sun Devil
54	CR6	63	Paul Green
55	CR7	64	Sahara
56	Top Billings	65	Seminol
57	Top Gun	66	Yuma
58	Acropolis	67	Warrior
59	Costello	68	Valley Green



Figura 1. Producto amplificado con los primers ITS. La banda observada corresponde al producto esperado.

Las secuencias obtenidas se alinearon con la base de datos del banco de genes del National Center for Biotechnology Information, los cuales la mayor similitud fue con *Bremia lactucae*.

El cuadro 4 muestra los resultados de la inoculación de 18 variedades de lechuga con diversas fuentes de *Bremia* colectadas en Guanajuato, Zacatecas y Puebla. El símbolo “+” significa que la planta inoculada presentó síntomas de la enfermedad a los 7 días, mientras que “-” significa que no se presentaron síntomas.

Cuadro 4. Resultado del inoculo colectado en los estados de Guanajuato, Zacatecas y Puebla en las variedades Top Billings, Top Gun, Acropolis, Costello, Olmeca, Raider, Sun Devil, Paul Green, Sahara, Seminol, Yuma, Warrior, Valley Green y Magnum en 19 variedades de lechuga.

	TOP BILLINGS	TOP GUN	ACROPOLIS	COSTELLO	OLMECA	RAIDER	SUN DEVIL	PAUL GREEN	SAHARA	SEMINOL	YUMA	WARRIOR	VALLEY GREEN	MAGNUM
YUMA	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+
COSTELLO	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+
GRYZZLY	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+
RHINO	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-
TOP BILLINGS	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-
WARRIOR	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
MAGNUM	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+

ANNIE	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-
COOL GUARD	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-
DENVER	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
RAIDER	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+
STALLION	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+
TOP GUN	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
SURE SHOT	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
NINER	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-
RED COACH	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+
9852	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+

En las variedades inoculadas, los síntomas de Bremia se presentaron 7 a 10 días posteriores a la inoculación a una temperatura de 18° C y humedad relativa del 100%. Las fuentes de inóculo más agresivas fueron las obtenidas de las variedades Acrópolis, Sun Devil, Seminol, Yuma y Warrior colectadas en campo; de manera sorprendente, fue en estas variedades donde se observó la mayor incidencia al momento de la colecta de las muestras (Capítulo 2). De las variedades evaluadas, las que presentaron mayor susceptibilidad a Bremia fueron Annie, Coolguard y Denver donde la aparición de los síntomas en estas variedades fue a los 6 días después de inoculadas. Es recomendable el sustituir estas variedades por otras más resistentes. Por otro lado, las variedades que mostraron más tolerancia fueron Costello, Top Billings, Top Gun y Red Coach.

Conclusiones

1. De las variedades evaluadas, las que presentaron mayor susceptibilidad a Bremia fueron Annie, Coolguard y Denver.
2. Las variedades que mostraron más tolerancia fueron Costello, Top Billings, Top Gun y Red Coach.

Literatura citada

- Bonnier, F.J.M., Reinink K. and Groenwold, R. 1994. Genetic Analysis of *Lactuca* Accessions with New Major Gene Resistance to Lettuce Downy Mildew. F. J. The American Phytopathological Society: 84:462-468
- Braz, L.T., Dalpian, T., Camargo, M. and Pissardi, M.A. 2007. IDENTIFICATION OF RACES OF *BREMIA LACTUCAE* IN SÃO PAULO, BRAZIL. Acta Hort. (ISHS) 760:317-322
- Lebeda, A. 1979. Identification of Races of *Bremia lactucae* in Czechoslovakia. Journal of Phytopathology, 94: 208–217.
- Lebeda A. 2004. Occurrence of race-specific resistance to *Bremia lactucae* in *Lactuca serriola* germplasm originating from four European countries. Genetic Variation for Plant Breeding, pp. 113-116 (2004)
- Wu, B. M., Subbarao, K. V., and van Bruggen, A. H. C. 2005. Analyses of the relationships between lettuce downy mildew and weather variables using geographic information system techniques. Plant Dis. 89:90-96.