

Distribución de Oosporas de *Phytophthora infestans* en el Suelo del Valle de Toluca, México

Phytophthora infestans Oospore Distribution in Soil of the Toluca Valley, Mexico

Gaspar Romero Montes, Instituto de Fitosanidad, Colegio de Posgraduados, Montecillo, edo. Méx., CP 56230, México; **Héctor Lozoya Saldaña**, Depto. de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, edo. Méx., CP 56230, México; **Sylvia Fernández Pavía**, Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Km. 9.5 Carr. Morelia Zinapécuaro, Tarímbaro, Michoacán, CP 58880, México; **Niklaus J. Grünwald**, Horticultural Crops Research Laboratory, USDA ARS, Dept. Botany & Plant Pathology, Oregon State University, 3420 NW Orchard Ave., Corvallis, OR 97330, USA. Corresponding: picti87@gmail.com

(Recibido: Marzo 26, 2010 Aceptado: Diciembre 14, 2010)

Romero Montes, G., Lozoya Saldaña, H., Fernández Pavía, S., J. Grünwald, N. 2011. Distribución de Oosporas de *Phytophthora infestans* en el Suelo del Valle de Toluca, México. Revista Mexicana de Fitopatología 29:25-38.

Romero Montes, G., Lozoya Saldaña, H., Fernández Pavía, S. and Grünwald, N.J. 2011. *Phytophthora infestans* Oospore Distribution in Soil of the Toluca Valley, Mexico. Revista Mexicana de Fitopatología 28:25-38.

Resumen. Las oosporas de *Phytophthora infestans* pueden sobrevivir en el suelo durante años en una distribución poco clara. Para determinar su distribución espacial en el suelo del Valle de Toluca, México, se establecieron parcelas de papa cv. 'Alfa' con y sin fungicidas foliares. La severidad final de la enfermedad fue de 35 y 100%, y el número promedio de oosporas fue de 1.15 y 1.26 por gramo de suelo en parcelas con y sin fungicidas, respectivamente. Agregados marginales fueron observados en ambas parcelas (Índices de Lloyd y Morisita; 1.42 con fungicida, 1.48 sin fungicida). El análisis de autocorrelación espacial mostró una inmediata correlación positiva significativa ($p \leq 0.05$) a 1 m en la parcela sin fungicidas, mientras que en la parcela con fungicida la correlación fue a los 4 m sin direccionalidad. Se observó dependencia espacial a través de los surcos; en la parcela con fungicidas ocurrió a cortas distancias (3.6 m) y a 135° acimut en la parcela sin fungicidas. Existieron diferencias entre los tratamientos al comparar la distancia máxima en la que se presentó correlación espacial entre cuadrantes; 3.6 y 27 m con y sin fungicida, respectivamente. La severidad de la enfermedad foliar no influyó en la concentración de oosporas en el suelo, pero afectó la distribución espacial, la agregación y la dependencia espacial.

Palabras clave adicionales: Papa, *Solanum tuberosum*, tizón tardío, epidemias.

Abstract. *Phytophthora infestans* soilborne oospores can survive in the soil for years in an unclear distribution. To determine their spatial distribution in soil in the Toluca Valley, Mexico, potato plots cv. 'Alpha', with and without foliage-sprayed fungicides were established. Final disease severity was 35 and 100%, and the average number of oospores was 1.15 and 1.26 per gram of soil in plots with and without fungicides, respectively. Marginal aggregates were observed in both plots (Lloyd and Morisita index; 1.42 with fungicide, 1.48 with no fungicide). The analysis of spatial autocorrelation showed immediate significant positive correlation ($p \leq 0.05$) to 1 m in the plot without fungicide, while in the plot with fungicide the correlation was at 4 m with no directionality. Spatial dependence was observed across rows; in the plot with fungicides it occurred at short distances (3.6 m) and at 135° azimuth in the plot without fungicides. There were differences among treatments when comparing the maximum distance in which there was spatial correlation among quadrants; 3.6 and 27 m with and without fungicide. Foliage disease severity did not influence the concentration of oospores in soil, but it did over spatial distribution, aggregation, and spatial dependence.

Additional keywords: Potato, *Solanum tuberosum*, late blight, epidemics.

Phytophthora infestans (P.i.) es un oomyceto heterotálico que

Phytophthora infestans (P.i.) is a heterothallic oomycete that

necesita de la interacción de dos tipos de apareamiento, denominados A1 y A2, para la formación de oosporas (Gallegly y Galindo, 1958; Smoot *et al.*, 1958; Niederhauser, 1991). Las oosporas son estructuras de paredes gruesas que pueden sobrevivir en el suelo de uno a cuatro años (Pittis y Shattock, 1994; Drenth *et al.*, 1995; Mayton *et al.*, 2000; Turkensteen *et al.*, 2000; Fernández-Pavía *et al.*, 2004), o mantener su viabilidad por lo menos durante un invierno (Pittis y Shattock, 1994; Drenth *et al.*, 1995; Fernández-Pavía *et al.*, 2004) y empezar epidemias en el ciclo siguiente como posible fuente de inóculo primario (Zarzycka y Sobkowiak, 1997; Andersson *et al.*, 1998; Fernández-Pavía *et al.*, 2004). En México, la formación natural de oosporas se ha observado por más de 50 años (Gallegly y Galindo, 1958; Niederhauser, 1991) y por lo general se pueden encontrar en los folíolos de cultivos susceptibles y moderadamente resistentes (Romero-Montes *et al.*, 2003), en las hojas de diferentes especies silvestres de *Solanum* (Flier *et al.*, 2001) y en tubérculos (Fernández-Pavía *et al.*, 2002). Esto sugiere que las oosporas se incorporan al suelo una vez que el periodo de crecimiento de la papa ha concluido y los residuos de la cosecha se han incorporado (Fernández-Pavía *et al.*, 2004).

Los estudios sobre la distribución espacial ayudan a detectar y caracterizar los patrones de distribución del inóculo (Xiao *et al.*, 1997), los mecanismos de dispersión del patógeno (Larkin *et al.*, 1995), los efectos de las prácticas culturales, de manejo y los efectos de factores climáticos en la infección, en la dispersión de patógenos y enfermedades (Campbell y Noe, 1985; Larkin *et al.*, 1995; Ristaino y Gumpertz, 2000). Diversas técnicas se han utilizado para definir la distribución de inóculo (Campbell y Noe, 1985; Campbell y Madden, 1990), y el grado de dependencia espacial que existe (Gumpertz *et al.*, 1997; Nelson *et al.*, 1999; Ristaino y Gumpertz, 2000). El análisis de autocorrelación espacial ayuda a entender el grado de correlación que existe entre una y otra muestra en la dirección de los surcos y entre los mismos (Gottwald *et al.*, 1992; Campbell y Van der Gaag, 1993; Xiao *et al.*, 1997); sin embargo, existen técnicas geoestadísticas que permiten visualizar los patrones de dependencia espacial en diferentes direcciones (Larkin *et al.*, 1995; Xiao *et al.*, 1997; Nelson *et al.*, 1999; Jaime-García *et al.*, 2001), mediante los cuales se puede predecir o estimar los valores en áreas no muestreadas (Nelson *et al.*, 1999; Jaime-García *et al.*, 2001).

El patrón de distribución espacial de oosporas de *P. infestans* en el suelo no ha sido descrito en México. El Valle de Toluca es un lugar ideal para llevar a cabo estos estudios, ya que ambos tipos de apareamiento se encuentran en un equilibrio aproximado de 1:1, lo que favorece a la formación natural de oosporas (Gallegly y Galindo, 1958; Grünwald *et al.*, 2001; Niederhauser, 1991; Flier *et al.*, 2001; Romero-Montes *et al.*, 2003; Fernández-Pavía *et al.*, 2004). Nuestro objetivo fue obtener una descripción cuantitativa de la distribución espacial de oosporas en el suelo en parcelas que difieren en la severidad de la enfermedad; parcelas que presentaban un caso severo de infección (susceptibilidad en la variedad 'Alfa' sin aplicación de fungicida) y otras con severidad moderada de la misma ('Alfa' con aplicación

needs the interaction of two opposite mating types, A1 and A2, for the formation of oospores (Gallegly and Galindo, 1958; Smoot *et al.*, 1958; Niederhauser, 1991). Oospores walled structures that can survive in the soil from one to four years (Pittis and Shattock, 1994; Drenth *et al.*, 1995; Mayton *et al.*, 2000; Turkensteen *et al.*, 2000; Fernández-Pavía *et al.*, 2004), or keep their viability for at least one winter (Pittis and Shattock, 1994; Drenth *et al.*, 1995; Fernández-Pavía *et al.*, 2004;) and start epidemics in the following cycle as possible source of primary inoculum (Zarzycka and Sobkowiak, 1997; Andersson *et al.*, 1998; Fernández-Pavía *et al.*, 2004). In Mexico, the center of origin of *P.i.* (Grünwald and Flier, 2005), the natural formation of oospores has been observed for over 50 years (Gallegly and Galindo, 1958; Niederhauser, 1991) and can typically be found in leaflets from susceptible and moderately resistant cultivars (Romero-Montes *et al.*, 2003), in leaves of different wild species of *Solanum* (Flier *et al.*, 2001) and in tubers (Fernández-Pavía *et al.*, 2002). This suggests that oospores are usually incorporated in the soil once the growth period of the potato has concluded and crop debris is tilled (Fernández-Pavía *et al.*, 2004).

Studies on the spatial distribution help to detect and characterize distribution patterns of inoculum (Xiao *et al.*, 1997), dispersal mechanisms of the pathogen (Larkin *et al.*, 1995), effects of cultural practices and management, and effects of climatic factors on the infection and the dispersal of pathogens and diseases (Campbell and Noe, 1985; Larkin *et al.*, 1995; Ristaino and Gumpertz, 2000). Diverse techniques have been used to define the distribution of inoculum (Campbell and Noe, 1985; Campbell and Madden, 1990), and the degree of spatial dependence that exists (Gumpertz *et al.*, 1997; Nelson *et al.*, 1999; Ristaino and Gumpertz, 2000). Spatial autocorrelation analysis helps to understand the degree of correlation that exists between one and another sample in the direction of the rows and in between the rows (Gottwald *et al.*, 1992; Campbell and Van der Gaag, 1993; Xiao *et al.*, 1997); however, there are geostatistical techniques that make it possible to visualize patterns of spatial dependence in different directions (Larkin *et al.*, 1995; Xiao *et al.*, 1997; Nelson *et al.*, 1999; Jaime-García *et al.*, 2001), and to predict or estimate values in unsampled areas (Nelson *et al.*, 1999; Jaime-García *et al.*, 2001).

The spatial pattern of *P.i.* oospores in soil has not been described in Mexico. The Valley of Toluca is an ideal place to conduct these studies, as both mating types are found in approximate equilibrium of 1:1, thus favoring the natural formation of oospores (Gallegly and Galindo, 1958; Grünwald *et al.*, 2001; Niederhauser, 1991; Flier *et al.*, 2001; Romero-Montes *et al.*, 2003; Fernández-Pavía *et al.*, 2004). Our objective was to obtain a quantitative description of the spatial distribution of oospores in soil in plots that differ on disease severity: plots had either very severe (susceptible 'Alpha' without fungicide application) or moderate disease severity ('Alpha' with weekly protective fungicide application).

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted in a field where

protectiva de fungicida cada semana).

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en un campo donde la papa no había sido sembrada en más de cuatro años (instalaciones de PICTIPAPA/ICAMEX/INIFAP, Metepec, México). El suelo fue areno-arcilloso con 1.9% de materia orgánica y pH de 5.4. La var. 'Alfa', susceptible a *P. infestans*, se sembró en junio del 2002 en dos parcelas de 22 surcos por 40 m de longitud. Los surcos estaban orientados de este a oeste. Para crear una epidemia mas o menos severa, una parcela fue asperjada semanalmente con el fungicida protectivo clorothalonil en una dosis de 1.15 kg i.a. ha⁻¹, mientras que la otra no recibió dicha protección. Las plantas fueron expuestas a infección natural por *P. infestans*. La severidad de la enfermedad se estimó cada semana, una vez que había mas de 50% de plantas emergidas; se utilizó la escala propuesta por la Sociedad Británica de Micología, modificada por Fry (1977).

Muestreo de suelo. El muestreo se llevó a cabo antes de la cosecha, tomando en cuenta sólo 18 m de los 18 surcos centrales de cada parcela. Dicha superficie fue dividida en cuadros adyacentes de 1 x 1 m resultando en un total de 324 cuadros por parcela. Tres muestras de 200 g de suelo fueron tomadas a una profundidad de 15 cm de cada uno de los cuadros con un muestreador de acero de fabricación casera (8 cm de diámetro). Las tres muestras de cada cuadro se mezclaron vigorosamente en una bolsa de polietileno y almacenados a temperatura ambiente para su posterior procesamiento en el laboratorio.

Cuantificación de oosporas. Las oosporas se extrajeron del suelo mediante el método de Van der Gaag y Frinking (1997) con las modificaciones descritas por Fernández-Pavía *et al.* (2004). Las muestras procesadas se almacenaron en alícuotas a 4°C para su posterior examinación. Las muestras fueron homogenizadas por medio de agitación vigorosa. El número de oosporas por muestra se cuantificó por microscopio, tomando cinco submuestras de 20 µl y observándolas con una resolución de 10× y 40×. El número total de oosporas por gramo de suelo se determinó con base en el promedio obtenido de las cinco submuestras de 20 µl. Oosporas ornamentadas, de tamaños extremos en comparación con los comúnmente observados en condiciones controladas para *P. infestans*, no se incluyeron en el conteo.

Análisis de distribución espacial. El patrón especial de los datos se determinó utilizando "estadísticas de ventanas en movimiento" (moving window statistics). Esta técnica es totalmente experimental y muestra el cambio del promedio y la desviación estándar a través de una parcela (Isaacks y Srivastava, 1989), lo que permite determinar las áreas con mayor variabilidad. Esta variabilidad puede detectarse mejor a través de esta técnica que por medio de gráficas tridimensionales, gráficas de contorno o gráficas de escala de grises (Gumpertz, 1997). La técnica consiste en dividir el campo en áreas rectangulares o cuadradas llamadas "ventanas", que pueden ser adyacentes el uno al otro o superpuestos. De cada ventana se obtienen la media, la desviación estándar u otras estadísticas y se representan

potato had not been sown in over four years (PICTIPAPA/ICAMEX/INIFAP facilities, Metepec, Méx.). The soil is a sandy-clay with 1.9% of organic matter and a pH of 5.4. Cultivar 'Alpha', susceptible to *P. infestans*, was planted on June 2002 in two plots of 22 rows by 40 m length. The rows were oriented in an east-west direction. To create a more or less severe epidemic, one plot was sprayed weekly with the protective fungicide chlorothalonil at 1.15 kg a. i. ha⁻¹, while the other did not receive this protection. The plants were exposed to natural infection by *P. infestans*. The severity of the disease was estimated visually each week, according to the scale proposed by the British Mycological Society and modified by Fry (1977), initiating after 50% of the plants had emerged.

Soil sampling. The sampling was carried out prior to harvest, considering only 18 m of the 18 central rows of each plot. This surface was divided into adjacent squares of 1 x 1 m resulting in a total of 324 squares per plot. Three samples of 200 g of soil were taken at a depth of 15 cm along each one of the square with a non-commercial, home-made steel sampler (8 cm diameter). The three samples from a square were mixed vigorously in a polyethylene bag and stored at room temperature for later processing in the laboratory.

Quantification of oospores. The oospores were extracted from the soil using the method of Van der Gaag & Frinking (1997) with the modifications described by Fernández-Pavía *et al.* (2004). The processed samples were stored in aliquots at 4°C for later examination. Samples were homogenized by vigorous agitation. The number of oospores per sample was quantified microscopically, by taking five subsamples of 20 µl and observing them with at a 10× and 40× resolution. The total number of oospores per gram of soil was determined based on the average obtained from the five 20 µl subsamples. Ornamented oospores, of either very large or very small sizes compared with those commonly observed under controlled conditions for *P. infestans*, were not included in the count.

Spatial distribution analysis. The spatial pattern of the data was determined using "moving window statistics". This technique is totally exploratory and shows the change of the mean and the standard deviation across a plot (Isaacks and Srivastava, 1989), making it possible to determine areas with greater variability. This variability can be better detected through this technique than through tridimensional graphs, contour graphs or gray scale graphs (Gumpertz, 1997). The technique consists of dividing the field into rectangular or square areas called "windows", which can be adjacent to one another or overlapping. From each window, the mean, standard deviation or other statistics are obtained and graphed in the same sense as the columns (Isaacks and Srivastava, 1989; Gumpertz, 1997). In this study there were 18 horizontal quadrants and 18 vertical ones, thus "windows" were constructed of four horizontal and four vertical quadrants. The larger the size of the window, the softer the data and vice-versa (Gumpertz, 1997). If the sample size is small, it is recommended that windows are overlapped (Isaacks and Srivastava, 1989; Gumpertz, 1997). Thus, in this work there were three overlapping quadrants among windows in both

gráficamente en el mismo sentido que los surcos (Isaacks y Srivastava, 1989; Gumpertz, 1997). En este estudio hubo 18 cuadrantes horizontales y 18 verticales, por lo tanto las "ventanas" se construyeron de cuatro cuadrantes horizontales y cuatro verticales. Cuanto mayor sea el tamaño de la ventana, los datos serán más suaves y vice-versa (Gumpertz, 1997). Si el tamaño de la muestra es pequeño, se recomienda que las ventanas se superpongan una sobre otra (Isaacks y Srivastava, 1989; Gumpertz, 1997). Por lo tanto, en este trabajo se establecieron tres cuadrantes superpuestos entre ventanas en ambas direcciones. En total, se obtuvieron 14 ventanas horizontales y 14 verticales. La media y la desviación estándar de cada ventana se obtuvieron en SAS versión 8.1 (PROC IML, SAS Institute, Cary, NC). Tres técnicas de análisis se utilizaron para medir el patrón de distribución espacial de las oosporas en el suelo. El índice de dispersión de Morisita (I_s) y el índice de amanchamiento de Lloyd (LIP) (Campbell y Noe, 1985; Campbell y Madden, 1990) se utilizaron como indicadores de la agregación de oosporas en el suelo. El análisis de autocorrelación espacial y el análisis geoestadístico se utilizaron para medir la autocorrelación y dependencia espacial entre los cuadrantes de cada parcela.

El análisis de autocorrelación espacial se realizó con el programa LCOR2 (Gottwald *et al.*, 1992), el cual calcula tres matrices de correlación especial: $\rho^+ = [\rho(l, k)]$, $\rho^- = [\rho(l, -k)]$ y $\rho = 1/2 (\rho^+ + \rho^-)$, donde l y k indican las distancias bidimensionales en número de filas y columnas, respectivamente. La primera fila y columna de ρ^+ y ρ^- (donde $l = 0$ y $k = 0$) son idénticas. Dado a que $l, k > 0$, ρ^+ y ρ^- contienen correlaciones espaciales por distancia en diferentes direcciones diagonales a través de la parcela (Gottwald *et al.*, 1992). Una diferencia en ρ^+ y ρ^- indica asimetría en la distribución espacial con respecto a los bordes de la parcela (Gottwald *et al.*, 1992; Campbell y Van der Gaag, 1993).

El análisis geoestadístico se llevó a cabo en cada una de las parcelas para determinar la dependencia espacial del número de oosporas entre los cuadrantes y para describir su continuidad espacial (Isaacks y Srivastava, 1989). Un análisis exploratorio de los datos se incluyó, junto con análisis de semivariogramas, obtenidos de la estructura espacial y la interpolación de superficies (Nelson *et al.*, 1999). Un semivariograma se define como la diferencia entre la mitad de la media al cuadrado y los pares de los valores de cada muestra separados por un intervalo dado de la distancia (Clark, 1987; Isaacks y Srivastava, 1989; Lecoustre *et al.*, 1989; Gumpertz *et al.*, 1997). El rango es cuando en este intervalo la semivarianza alcanza un valor constante e indica la distancia máxima en la que los valores de una muestra y otra están fuertemente correlacionados (Isaacks y Srivastava, 1989; Larkin *et al.*, 1995; Gumpertz *et al.*, 1997). Las muestras separadas por distancias más pequeñas que el rango están correlacionadas espacialmente, en contraste con aquellos que están separadas por distancias mayores que el rango. El valor constante alcanzado por la semivarianza al llegar al rango se conoce como "umbral" (Isaacks y Srivastava, 1989) y estima el valor total adicional sobre el rango (Jaime-García *et al.*, 2001). El punto en el cual el semivariograma cruza el eje Y se llama la varianza "pepita";

directions. In total, 14 horizontal and 14 vertical windows were obtained. The mean and the standard deviation of each window were obtained in SAS ver. 8.1 (PROC IML, SAS Institute, Cary, NC). Three analytic techniques were used to measure the spatial distribution pattern of the oospores in the soil. The Morisita's index of dispersion (I_s) and the Lloyd's index of patchiness (LIP) (Campbell and Noe, 1985; Campbell and Madden, 1990) were used as indicators of aggregation of oospores in soil. Analysis of spatial autocorrelation and geostatistical analysis were used to measure autocorrelation and spatial dependence of oospores among quadrants of each plot.

The analysis of spatial autocorrelation was made with the program LCOR2 (Gottwald *et al.*, 1992), which calculates three spatial correlation matrices: $\rho^+ = [\rho(l, k)]$, $\rho^- = [\rho(l, -k)]$ and $\rho = 1/2 (\rho^+ + \rho^-)$, where l and k indicate the bidimensional distances in numbers of rows and columns, respectively. The first row and column of ρ^+ and ρ^- (where $l = 0$ and $k = 0$) are identical. For $l, k > 0$, ρ^+ and ρ^- contain spatial correlations per distance in different diagonal directions across the plot (Gottwald *et al.*, 1992). A difference in ρ^+ and ρ^- indicates asymmetry in the spatial distribution with respect to the edges of the plot (Gottwald *et al.*, 1992; Campbell and Van der Gaag, 1993).

Geostatistical analysis was conducted in each of the plots to determine the spatial dependence of the number of oospores among quadrants and to describe their spatial continuity (Isaacks and Srivastava, 1989). An exploratory analysis of the data was included, along with analysis of semivariograms, obtained from the spatial structure and interpolation of surfaces (Nelson *et al.*, 1999). A semivariogram is defined as the difference between the half of the squared mean and the pairs of the values of each sample separated by a given interval of distance (Clark, 1987; Isaacks and Srivastava, 1989; Lecoustre *et al.*, 1989; Gumpertz *et al.*, 1997). Range is when in this interval the semivariance reaches a constant value and indicates the maximum distance in which the values of one sample and another are strongly correlated (Isaacks and Srivastava, 1989; Larkin *et al.*, 1995; Gumpertz *et al.*, 1997). The samples separated by distances smaller than the range are spatially correlated, in contrast to those that are separated by distances greater than the range. The constant value reached by the semivariance when reaching the range, is known as "sill" (Isaacks and Srivastava, 1989) and estimates the additional total value above the range (Jaime-García *et al.*, 2001). The point at which the semivariogram crosses the Y axis is called the "nugget" variance; this value reflects a discontinuity at zero distance and estimates the variability and the error of measurement at very short distances (Isaacks and Srivastava, 1989; Larkin *et al.*, 1995; Jaime-García *et al.*, 2001). The differences among the slopes of each semivariogram in different direction indicate the presence or absence of anisotropy [spatial correlation that varies with the direction (Isaacks & Srivastava, 1989; Larkin *et al.*, 1995; Gumpertz *et al.*, 1997; Jaime-García *et al.*, 2001)]. The semivariance, covariance, distance interval and frequency of pairs for each interval of distance were calculated with SAS

este valor refleja una discontinuidad a distancia cero y estima la variabilidad y el error de medición a cortas distancias (Isaacks y Srivastava, 1989; Larkin *et al.*, 1995; Jaime-García *et al.*, 2001). Las diferencias entre las pendientes en dirección diferente de cada semivariograma indican la presencia o ausencia de anisotropía [correlación espacial que varía con la dirección (Isaacks y Srivastava, 1989; Larkin *et al.*, 1995; Gumpertz *et al.*, 1997; Jaime-García *et al.*, 2001)]. La semivarianza, covarianza, el intervalo de distancia y la frecuencia de pares para cada intervalo de distancia se calculó utilizando SAS 8.1 (PROC VARIOGRAM, SAS Institute, Cary, NC). Para evitar el efecto de confusión de observaciones fuera de lugar, se utilizó un estimador del semivariograma (Gumpertz *et al.*, 1997). Semivariogramas orientados también se construyeron, graficando la semivarianza contra el intervalo de distancia en cuatro direcciones, 0, 45, 90 y 135° acimut, donde 0° representa la dirección en la que los surcos fueron establecidos (este-oeste). Los modelos esféricos, Gaussiano, exponencial, de poder, de ondas y racionales (Clark, 1987; Isaacks y Srivastava, 1989; Gumpertz *et al.*, 1997), se utilizaron para ajustar cada uno de los semivariogramas. La técnica utilizada fue la de mínimos cuadrados ponderados en la progresión no lineal (Gumpertz *et al.*, 1997) (PROC NLIN, SAS Institute, Cary, NC); los pesos se calcularon dividiendo el número de pares de cada intervalo de distancia por la semivarianza al cuadrado del modelo en un intervalo de distancia determinada (Larkin *et al.*, 1995; Gumpertz *et al.*, 1997). El modelo con el menor cuadrado promedio del error se considera que ofrece el mejor ajuste. Los semivariogramas que no se ajustaron a ningún modelo se determinaron mediante la inspección visual de la gráfica. La presencia o ausencia de anisotropía fue determinada por el comportamiento de los semivariogramas en las diferentes direcciones.

El kriging ordinario es un método de predicción espacial que produce mapas de superficie y contorno indicando la probabilidad de ocurrencia en las zonas no muestreadas (Isaacks y Srivastava, 1989; Jaime-García *et al.*, 2001). Una vez que se conoce el modelo que mejor se adapte al semivariograma de una variable dada, se puede hacer una estimación local de una variable regionalizada de una muestra (Lecoustre *et al.*, 1989). El programa SURFER 6.04 (Golden Software Inc., Golden, Colorado) fue utilizado para generar mapas de superficie y de contorno en cada una de las parcelas, a través del procedimiento de kriging ordinario y la incorporación de los parámetros obtenidos por el método instalado en el semivariograma.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Detección de oosporas. Las concentraciones de oosporas oscilaron entre 0-7 g⁻¹ de suelo en ambas parcelas (Cuadro 1). La mayoría de los cuadrantes tenían entre 0-2 g⁻¹ de suelo en cualquiera de los dos tratamientos (Figura 1). La media y la desviación estándar mostraron una variación homogénea a lo largo de la parcela con aplicación de fungicida (Figura 2a) con un poco más de variación hacia el final de la parcela, lo que sugiere una mayor heterogeneidad espacial.

Tabla 1. Gravedad de la enfermedad final (%), rango, media, varianza, y los índices de agregación de *P. infestans* oosporas origen en el suelo g⁻¹ de suelo con y sin spray foliar de fungicidas.

Table 1. Final disease severity (%), range, mean, variance, and aggregation indices of *P. infestans* soilborne oospores g⁻¹ soil with and without foliage sprays of fungicide.

Treatment	Range	Mean	Variance	LIP ^a	I _s ^b	Final disease severity (%)
W/ fungicide	0-7	1.154	1.7161	1.422	1.421	35
No fungicide	0-7	1.269	2.0546	1.489	1.488	100

^a Lloyd's index of patchiness. Values over 1 are an indication of aggregation. The aggregation level increases with the LIP value.

^b Morisita's index of aggregation. Values over 1 are an indication of aggregation. The aggregation level increases with the I_s value.

8.1 (PROC VARIOGRAM, SAS Institute, Cary, NC). To avoid the confounding effect of out of place observations, an estimator of the semivariogram was used (Gumpertz *et al.*, 1997). Oriented semivariograms were also constructed, graphing the semivariance versus the interval of distance in four directions, 0, 45, 90 and 135° azimuth, where 0° represents the direction in which the rows were established (east-west). The models Spherical, Gaussian, Exponential, Power, Wave and Rational (Clark, 1987; Isaacks and Srivastava, 1989; Gumpertz *et al.*, 1997) were used to adjust each one of the semivariograms. The technique used was that of weighted minimum squares in non-linear progression (Gumpertz *et al.*, 1997) (PROC NLIN, SAS Institute, Cary, NC); the weights were calculated by dividing the number of pairs of each distance interval by the squared semivariance of the model at a given distance interval (Larkin *et al.*, 1995; Gumpertz *et al.*, 1997). The model with the least mean square of the error was considered to provide the best fit. The semivariograms that did not fit any model were determined through visual inspection of the graph. The presence or absence of anisotropy was determined by the behavior of the semivariograms in the different directions.

Ordinary kriging is a method of spatial prediction that produces surface and contour maps indicating the likelihood of occurrence in unsampled areas (Isaacks and Srivastava, 1989; Jaime-García *et al.*, 2001). Once the model that best fits the semivariogram of a given variable is known, a local estimation can be made of a regionalized variable from a sample (Lecoustre *et al.*, 1989). The program SURFER 6.04 (Golden Software Inc., Golden, Colorado) was used to generate surface and contour maps in each of the plots, through the ordinary kriging procedure and incorporating the parameters obtained by the model fitted to the semivariogram.

RESULTS AND DISCUSSION

Detection of oospores. Concentrations of oospores ranged between 0-7 g⁻¹ of soil in both plots (Table 1). The majority of quadrants had between 0-2 g⁻¹ of soil in either treatment (Figure 1). The mean and the standard deviation showed homogeneous variation along the plot with

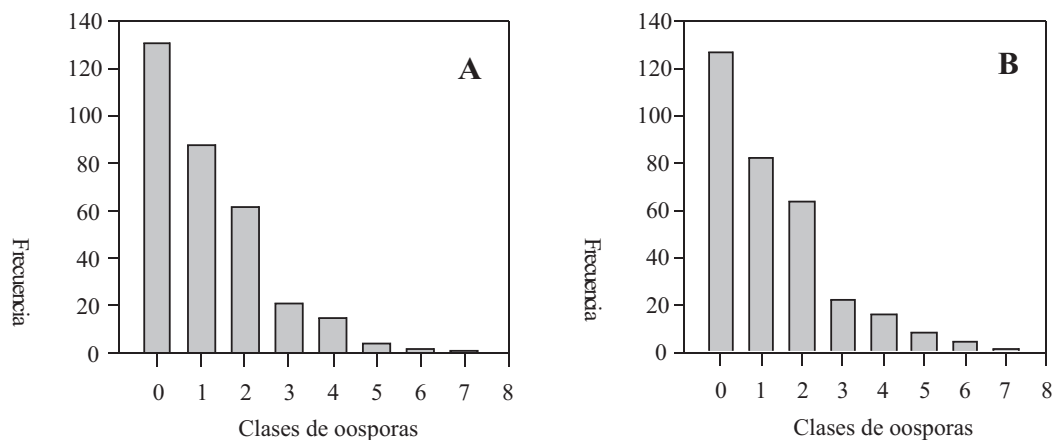


Figura 1. Frecuencia de oosporas de *Phytophthora infestans* g^{-1} de suelo en las parcelas. A) con y B) sin fungicida. Las clases de oosporas se corresponden al número de oosporas encontradas por gramo de suelo; Clases 0 = 0 oosporas g^{-1} de suelo, etc.

Figure 1. Frequency of soilborne oospores of *Phytophthora infestans* g^{-1} of soil in plots. A) with and B) without fungicide. The classes of oospores correspond to the number of oospores found per gram of soil; Class 0 = 0 oospores g^{-1} soil, etc.

En la parcela sin fungicidas, la media y la desviación estándar revelan variación de Norte a Sur, en sentido perpendicular a los surcos, con una mayor variación del centro hacia la derecha de la parcela (Figura 2b). Las áreas con mayor variación en esta parcela se encuentran hacia el centro de la misma.

Índices de dispersión. En ambos tratamientos la variación fue superior a la media, lo que indica una agregación del inóculo. Los índices de dispersión fueron superiores a 1, en los dos tratamientos (Cuadro 1). Los valores de LIP and I_s fueron ligeramente superior a 1, lo que indica que existe agregación en la densidad de oosporas en el suelo. Esto podría ser una consecuencia de filas estabilizado en un sistema de abastecimiento de agua de secano. En la incidencia de la enfermedad de los suelos de regadío y la difusión de patógenos (*Phytophthora capsici* en pimiento) siguen el patrón de filas (Silva-Rojas *et al.*, 2009). En papas, este hallazgo (agregación densidad) predice los focos de inóculo inicial en la siguiente temporada de crecimiento si el mismo cultivo se siembra sin rotación, de las oosporas pueden sobrevivir en el suelo durante varios años (Pittis y Shattock, 1994; Drenth *et al.*, 1995; Mayton *et al.*, 2000; Turkensteen *et al.*, 2000;.. Fernández-Pavía *et al.*, 2004; Agrocourier, 2011).

Autocorrelación espacial. Autocorrelogramas espaciales fueron examinados para cada uno de los tratamientos. En ambos casos, no se encontró asimetría cuando las matrices ρ^+ y ρ^- fueron examinadas, ya que no había ninguna indicación clara de que los coeficientes de correlación se redujeron a medida que la distancia de intervalos se incrementaba. Los patrones de proximidad fueron construidos basados en la matriz ρ (Figura 3). Ambos tratamientos mostraron diferencias con respecto al patrón de proximidad. En la parcela con fungicida se observó una correlación positiva a $p \leq 0.05$ interpolado con cuadrantes sin correlación entre surcos (Figura 3a). No se encontró

fungicide application (Figure 2a) with a little more variation toward the end of the plot, which suggests a greater spatial heterogeneity.

In the plot without fungicides, the mean and standard deviation reveal variation from north to south, perpendicular to the rows, with a greater variation from the center to the right of the plot (Figure 2b). The areas with greater variation in this plot are located toward the center of the plot.

Dispersal indices. In both treatments the variance was higher than the mean, which indicates an aggregation of the inoculum. The dispersal indices were higher than one in both treatments (Table 1). The values of LIP and I_s were slightly higher than one, indicating that there is aggregation in the density of oospores in soil. This could be a consequence of leveled rows in a rainfed water supply system. In irrigated soils disease incidence and pathogen dissemination (*Phytophthora capsici* in peppers) follow the rows pattern (Silva-Rojas *et al.*, 2009). In potatoes, this finding (density aggregation) predicts the foci for initial inoculum in the following growing season if the same crop is planted without rotation, for the oospores may survive in the soil for several years (Pittis and Shattock, 1994; Drenth *et al.*, 1995; Mayton *et al.*, 2000; Turkensteen *et al.*, 2000; Fernández-Pavía *et al.*, 2004; Agrocourier, 2011).

Spatial autocorrelation. Spatial autocorrelograms were examined for each one of the treatments. In both cases, asymmetry was not found when the matrices ρ^+ and ρ^- were examined, as there was no clear indication that the correlation coefficients were reduced as the distance interval was increased. The patterns of proximity were constructed based on the matrix ρ (Figure 3). Both treatments showed differences with respect to the proximity pattern. In the plot with fungicide a positive correlation at $p \leq 0.05$ interpolated with quadrants without correlation across rows was observed (Figure 3a). No correlation was found in other directions. The plot with fungicide application showed a positive

correlación en otras direcciones. La parcela con aplicaciones de fungicida mostró una correlación positiva de $p \leq 0.05$ en los cuadrantes adyacentes en la dirección de y a través de los surcos (Figura 3b), indicando que el tamaño de la agrupación es superior al tamaño del cuadrante. El resto de los cuadrantes correlacionaron dentro y a través de surcos pero no fueron interrumpidos por cuadrantes sin correlación (Figura 3b). Esta distribución peculiar de las oosporas en el suelo es muy diferente a lo que se debe esperar para los modelos de epidemias follaje (Romero-Montes *et al.*, 2008; Skelsey *et al.*, 2009a; Skelsey *et al.*, 2009b; Skelsey *et al.*, 2010).

Análisis geoestadístico. Se encontraron diferencias entre los semivariogramas de cada parcela al examinar su comportamiento. Se encontró poca dependencia espacial en la parcela con aplicación de fungicida (Figura 4a); el valor de

correlation of $p \leq 0.05$ in the adjacent quadrants in the direction of the rows and across rows (Figure 3b), indicating that the size of the cluster is greater than the size of the quadrant. The rest of the quadrants correlated within rows and across rows but were interrupted by quadrants without correlation (Figure 3b). This peculiar oospore distribution in soil is quite different to what it should be expected for foliage epidemics models (Romero-Montes *et al.*, 2008; Skelsey *et al.*, 2009a; Skelsey *et al.*, 2009b; Skelsey *et al.*, 2010).

Geostatistical analysis. Differences among the semivariograms of each plot were found when examining their behavior. Little spatial dependence was found in the plot with fungicide application (Figure 4a); the value of the semivariance increased slightly as the distance interval became greater. A slight spatial dependence was found across

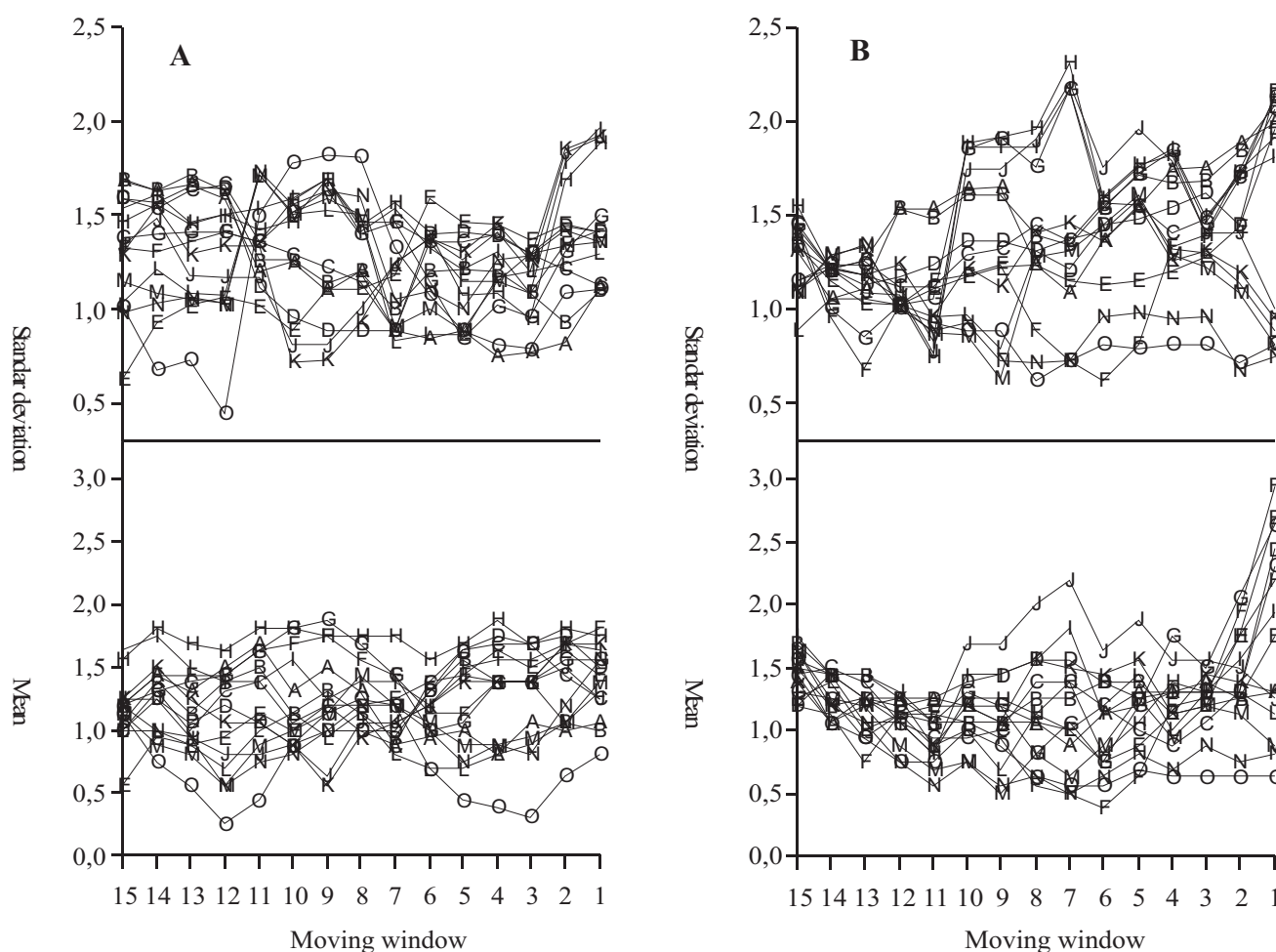


Figura 2. Media y desviación estándar de oosporas de *Phytophthora infestans* g^{-1} de suelo en el movimiento "ventanas" de 4x4 cuadrantes con la superposición de tres cuadrantes en las parcelas. a) Con fungicida y b) sin fungicida. La letra "A" indica que la ventana se inicia en el cuadrante 1, "B" indica que la ventana se inicia en el cuadrante 2 y así sucesivamente. Los surcos estuvieron orientados en dirección este-oeste.

Figure 2. Mean and standard deviation of soilborne oospores of *Phytophthora infestans* g^{-1} soil in moving "windows" of 4x4 quadrants with overlapping of three quadrants in plots. a) with fungicide and b) without fungicide. The letter "A" indicates that the window begins in quadrant 1, "B" indicates that the window begins in quadrant 2 and so on. The rows are oriented in an east-west direction.

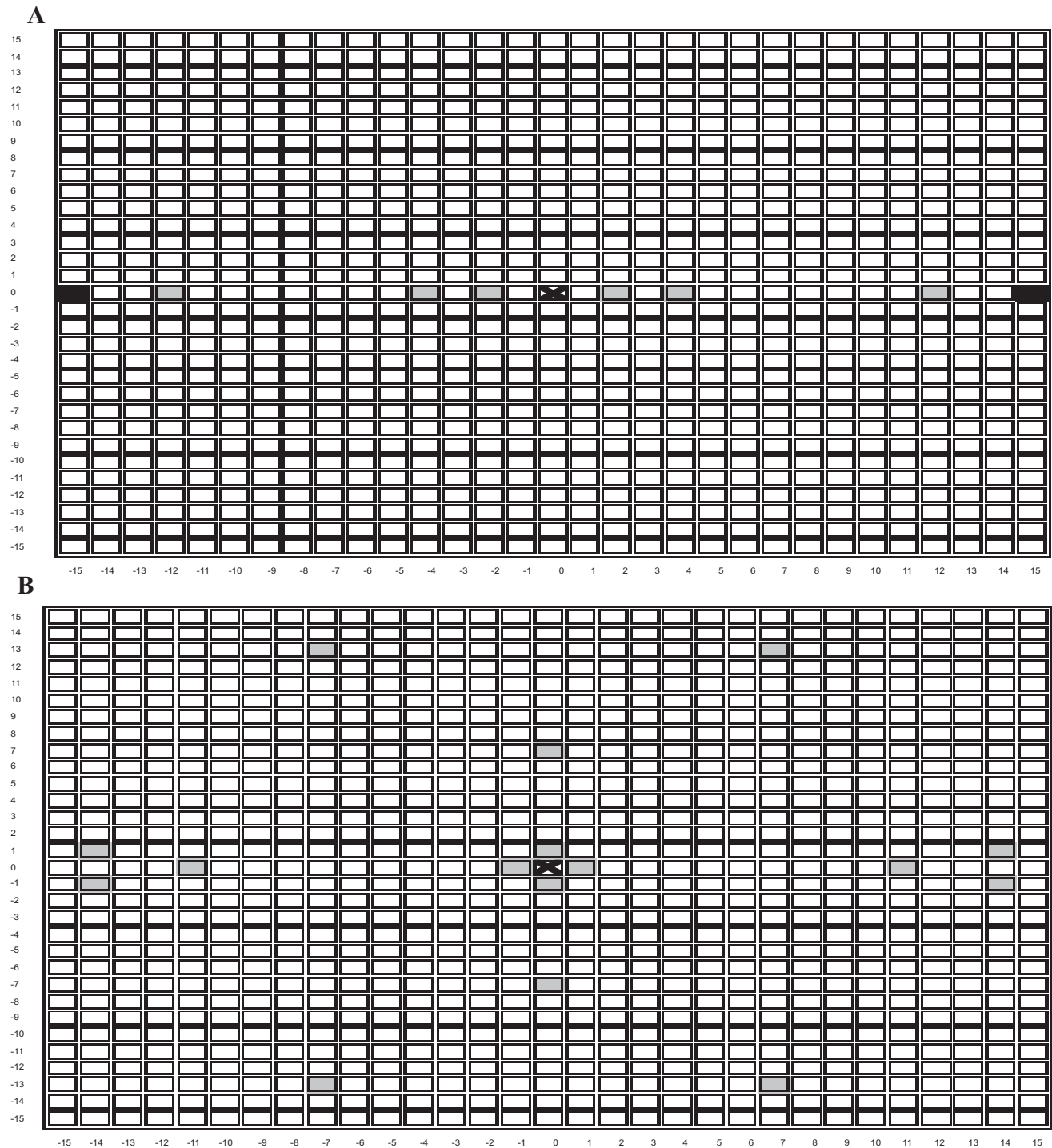


Figura 3. Patrones de la proximidad de la densidad de oosporas de *Phytophthora infestans* g^{-1} de suelo en las parcelas. A) Con fungicida y B) sin fungicida, derivado de un análisis de autocorrelación espacial. Los cuadrados de color negro, gris y blanco representan los coeficientes de correlación significativa de $p=0.01$, $p=0.05$ y $p < 0.05$ (no significativo), respectivamente. Los correlogramas están representados en las dimensiones (l, k) , $(-l, -k)$, $(l, -k)$ y $(-l, k)$. Los surcos están orientados en dirección este-oeste.

Figure 3. Patterns of proximity of the oospore density of *Phytophthora infestans* g^{-1} soil in plots. A) with fungicide and B) without fungicide, derived from an analysis of spatial autocorrelation. The black, grey and white squares represent coefficients with significant correlation at $p=0.01$, $p=0.05$ and $p < 0.05$ (not significant), respectively. The correlograms are represented in the dimensions (l, k) , $(-l, -k)$, $(l, -k)$ and $(-l, k)$. The rows are oriented in an east-west direction.

la semivarianza incrementó ligeramente a medida que el intervalo de distancia se incrementó. Se encontró una ligeradependencia espacial a través de los surcos de la parcela con aplicación de fungicida; sin embargo, esta dependencia espacial se presenta a distancias cortas (3.6 m) en esta dirección (Cuadro 2). El valor de la pepita y la varianza sill son similares, lo que indica que una variación pequeña sólo existe a distancias cortas. En el resto de las direcciones la dependencia espacial era débil.

Se observó una mayor dependencia espacial en los semivariogramas de la parcela sin fungicida. La semivarianza de la densidad de las oosporas a través de surcos (90°) incrementó en proporción a la longitud del intervalo, sin llegar a un valor constante (Figura 4b); ello indica que el número de oosporas por gramo de suelo esta espacialmente correlacionado entre cuadrantes y que el grado de dependencia disminuye al aumentar la longitud del intervalo.

La distancia en la que existe una dependencia espacial entre los cuadrantes es de 17 m (Cuadro 2). En la dirección de 135° el patrón es similar al observado entre los surcos, pero la semivarianza alcanza un valor máximo a una determinada longitud de intervalo (Figura 4b). Al igual que a través de surcos, la dependencia espacial en esta dirección es evidente.

rows, of the plot with fungicide; however, this spatial dependence occurs at very short distances (3.6 m) in this direction (Table 2). The value of the Nugget and Sill variance are very similar, indicating that small variation exists only over very short distances. In the rest of the directions, there was very weak spatial dependence.

A greater spatial dependence was observed at the semivariograms of the plot without fungicide. The semivariance of the density of oospores across rows (90°) increased in proportion to interval length, without reaching a constant value (Figure 4b); this indicates that the number of oospores per gram of soil is spatially correlated among quadrants and that the degree of dependence decreases as the interval length increases. The distance in which there is spatial dependence among the quadrants is 17 m (Table 2). In the 135° direction the pattern is similar to that observed across rows, but the semivariance reaches a maximum value at a given interval length (Figure 4b). As in across rows, the spatial dependence in this direction is evident. The maximum distance at which there is spatial correlation is 26.9 m. The direction of the rows and 45° showed a weak spatial dependence in this plot, which oospores g⁻¹ of soil (Figure 5a). The spatial distribution of *P. infestans* oospores was

Tabla 2. Semivariograma de parámetros estimados por los diferentes modelos de densidad de oosporas de *P. infestans* g⁻¹, con y sin fungicida.

Table 2. Semivariogram parameters estimated by different models of soilborne oospore density of *P. infestans* g⁻¹ of soil, with and without fungicide.

Treatment	Direction (degrees) ^a	Model, from ^b	Err mean square	Nugget ^c variance	Sill ^d	Range of spatial dependence ^e
W/ fungicide	0	Periodical ^f	---	---	0.97	9.7
	45	Periodical	---	---	0.95	9.9
	90	Spherical	7.47	1.02	1.04	3.6
	135	Periodical	---	---	1.07	9.9
Without	0	Periodical	---	---	1.1	3.5
	45	Periodical	---	---	1.12	2.15
	90	Power	5.52	1.006	---	>17
	135	Wave	2.06	0.96	2.31	26.9

La distancia máxima en la que existe una correlación espacial es de 26.9 m. Los surcos en una dirección de 45° mostraron una dependencia espacial débil en esta parcela, lo que indica que el número de oosporas por gramo de suelo tiende a ser variable en esta dirección (Figura 2b).

Existe anisotropía en ambos tratamientos; esto es evidente en la parcela sin aplicación de fungicida, ya que hay una diferencia remarcada con respecto a las pendientes de cada uno de los semivariogramas (Figura 4b). En ambos casos existe una correlación espacial a través de los surcos, lo que demuestra la presencia de anisotropía.

Los mapas geoestadísticos interpolativos y las gráficas de contorno muestran la predicción, tamaño, distribución y número de focos basados en una interpolación llevada a cabo mediante el método de kriging ordinario. El tamaño y número de focos previstos así como el número de oosporas por gramo de suelo son mayores en la parcela sin aplicación de fungicida

determined in plots with and without fungicide application. indicates that the number of oospores per gram of soil tends to be very variable in this direction (Figure 2b). There is anisotropy in both treatments; this is very evident in the plot without fungicide application, as there is a very marked difference with respect to the slopes of each one of the semivariograms (Figure 4b). In both cases there is spatial correlation across rows, which shows the presence of anisotropy. The interpolative geostatistical maps and the contour graphs show the prediction, size, distribution and number of foci based on an interpolation carried out through the ordinary kriging method. The size and number of predicted foci as well as the number of oospores per gram of soil are greater in the plot without fungicide application (Figure 5b). In the case of the plot that had fungicide applications, the predicted number of oospores was around two. Large areas of land show the likelihood of finding 0-1

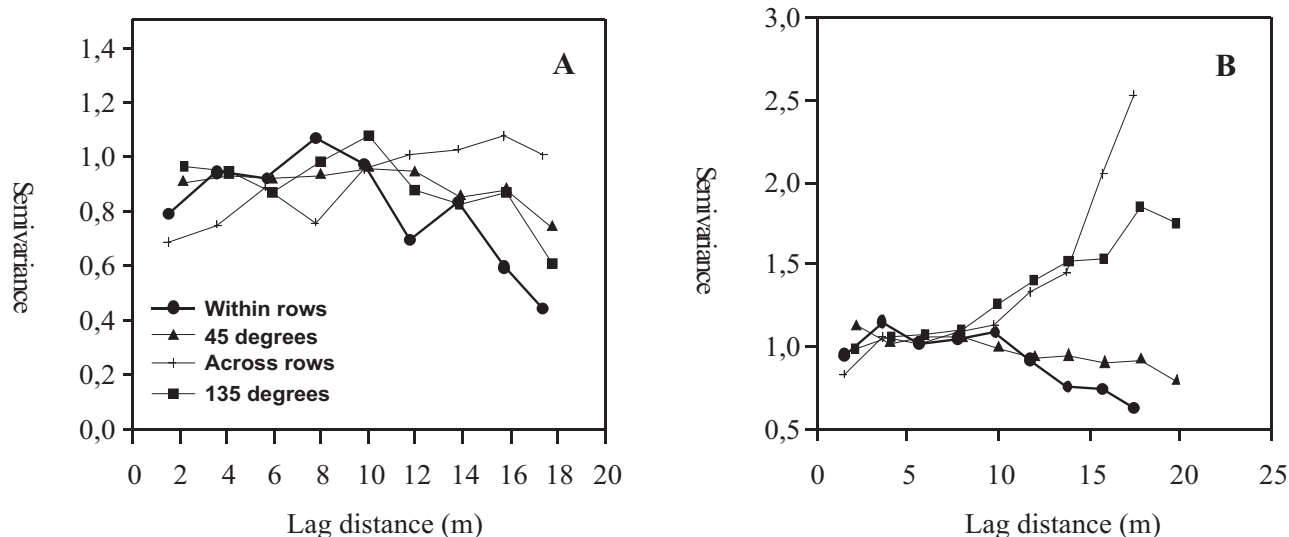


Figura 4. Semivariogramas experimentales orientadas en cuatro direcciones para la densidad de oosporas de *Phytophthora infestans* g⁻¹ de suelo en las parcelas. A) Con fungicida y B) sin fungicida. Los surcos estaban orientados en dirección este-oeste. Figure 4. Experimental semivariograms oriented in four directions for the density of soilborne oospores of *Phytophthora infestans* g⁻¹ of soil in plots. A) with fungicide and B) without fungicide. The rows were oriented in an east-west direction.

(Figura 5b). En el caso de la parcela que si tuvo aplicaciones de fungicida, el número previsto de oosporas fue alrededor de dos. Grandes extensiones de tierra muestran la posibilidad de encontrar 0-1 oosporas por gramo de suelo (Figura 5a).

La distribución espacial de oosporas de *P. infestans* se determinó en parcelas con y sin aplicación de fungicida. La severidad final de la enfermedad fue de 35% para la parcela tratada con fungicida y de 100% para la parcela no tratada. En estudios anteriores se encontró una mayor cantidad de oosporas en tratamientos donde se permitió que la enfermedad progresara gradualmente (Romero-Montes, no publicado), por lo tanto, la hipótesis principal de este trabajo fue que habrían diferencias significativas con respecto al número de oosporas por gramo de suelo entre las parcelas no tratadas y tratadas con fungicida. Sin embargo, las cifras observadas de oosporas en ambas parcelas fueron similares (Figura 1), y la media y varianza generalizada eran casi idénticas (Cuadro 1). Estos parámetros no permiten inferencias sobre los patrones espaciales de distribución de oosporas en el suelo; por lo que la regionalización de las variables es un enfoque lógico para entender la distribución. Una variable es regionalizada cuando su valor depende de su localización en el espacio en el cual se combinan dos aspectos importantes: 1) el azar, donde la variable presenta irregularidades en el espacio que no es predecible a partir de un punto a otro; y 2) la estructura, donde los datos se organizan en el espacio (Lecoustre *et al.*, 1989). Cuando la media y la desviación estándar se obtienen para áreas pequeñas en una parcela, las diferencias en estructura espacial se observan. La estructura espacial en ambas parcelas fue muestra y otra varió con respecto a la parcela. La enfermedad se estableció más o menos uniformemente a lo largo de ambos tratamientos, pero esto no necesariamente implica que la formación de oosporas fue uniforme. Diversos factores influyen la formación de oosporas (Drenth *et al.*, 1995; Cohen

oosporas g⁻¹ of soil (Figure 5a).

The spatial distribution of *P. infestans* oospores was determined in plots with and without fungicide application. Final disease severity was 35% for the fungicide treated plot and 100% for the non-treated plot. In previous studies a greater amount of oospores was found in treatments where the disease was allowed to progress gradually (Romero-Montes *et al.*, 2008,), hence the leading hypothesis for this work was that there would be significant differences with respect to the number of oospores per gram of soil between the fungicide treated and untreated plots. However, the observed numbers of oospores in both plots were very similar (Figure 1), and the generalized mean and variance were almost identical (Table 1). These parameters do not allow inferences on the spatial patterns of oospores distribution in the soil; thus regionalization of the variables is a logical approach to understand distribution. A variable is regionalized when its value depends on its location in the space in which two important aspects are combined: 1) randomness, where the variable presents irregularities in the space that are not predictable from one point to another; and 2) structure, where the data are organized in space (Lecoustre *et al.*, 1989). When the mean and the standard deviation are obtained for small areas in a plot, the differences in spatial structure of the data are observed. The spatial structure in both plots was very different. The spatial dependence that exists between one sample and another varied with respect to the plot. Disease was established more or less uniformly throughout both treatments, but this does not necessarily imply that oospore formation was uniform. Diverse factors influence the formation of oospores (Drenth *et al.*, 1995; Cohen *et al.*, 2000; Turkensteen *et al.*, 2000). Obviously, both mating types need to coinfect a leaf to allow oospore formation to occur, and it is possible that the distribution of both mating types in a plot is not homogeneous. In this study the spatial distribution of soil

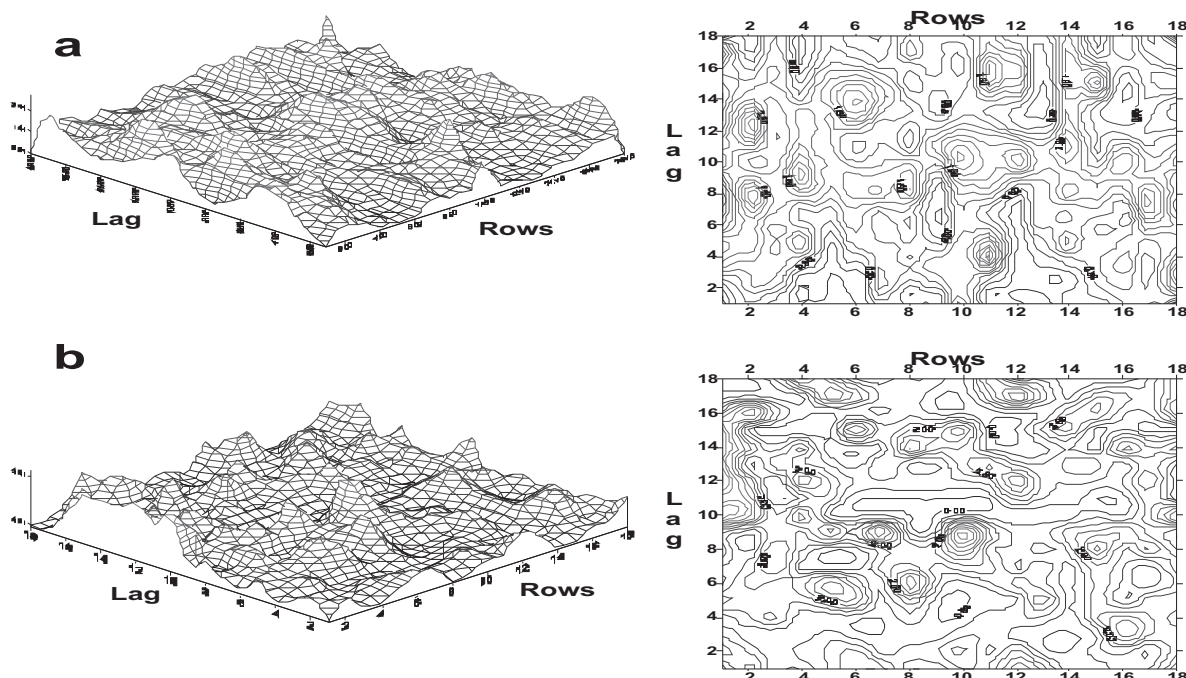


Figura 5. Geoestadística interpolativa y el contorno de mapas generados por las estadísticas kriging del número de oosporas de *Phytophthora infestans* g^{-1} de suelo en las parcelas. a) Con fungicida y b) sin fungicida. Los surcos están orientados en dirección este-oeste.

Figure 5. Geostatistical interpolative and contour maps generated by kriging statistics of the number of soilborne oospores of *Phytophthora infestans* g^{-1} soil in plots. a) with fungicide and b) without fungicide. The rows are oriented in an east-west direction.

et al., 2000; Turkensteen *et al.*, 2000). Obviamente, ambos tipos de apareamiento necesitan coinfectar una hoja para permitir la formación de la oospora, y es posible que la distribución de ambos tipos de apareamiento en una parcela no sea homogénea. En este estudio la distribución espacial de oosporas de *P. infestans* por gramo de suelo no fue ni aleatoria ni uniforme, sino más bien, agregada. Este tipo de patrón es mejor descrito por los valores del índice de Lloyd de amanchonamiento (LIP) y el índice de Morisita de agregación (I_s). Los valores de estos índices en este experimento fueron ligeramente superiores a uno en ambos tratamientos, lo que indica una agregación débil. El análisis de autocorrelación espacial también reveló agregación de oosporas en la parcela que no tenía aplicación de fungicida, ya que existe una significativa correlación positiva ($p \leq 0.05$) con el cuadrante inmediato, lo que indica que el tamaño de la agregación es superior al tamaño del cuadrante.

Los semivariogramas indican la presencia de anisotropía en ambos tratamientos. También indican la existencia de dependencia espacial a través de los surcos en ambos tratamientos con un efecto más significativo en la parcela sin aplicación de fungicida. La distancia a la que las muestras se correlacionaron fue de 3.6 m en la parcela con aplicaciones de fungicida, en contraste con la parcela sin aplicaciones de fungicida donde la distancia fue de entre 17 y 27 m a través de surcos y a 135° acimut, respectivamente. Este patrón puede ser explicado como el resultado del manejo que se le dio a cada parcela. Más esporangios se formaron en

was neither random nor uniform, but rather, aggregated. This type of pattern is best described by the values of the Lloyd's index of patchiness (LIP) and Morisita index of aggregation (I_s). The values of these indices in this experiment were slightly higher than one in both treatments, indicating weak aggregation. The analysis of spatial autocorrelation also revealed oospore aggregation in the plot that had no fungicide application, as there was a significant positive correlation ($p \leq 0.05$) with the immediate quadrant, which indicates that the size of the aggregate is superior to the size of the quadrant.

The semivariograms indicate the presence of anisotropy in both treatments. They also indicate the existence of a spatial dependence across rows in both treatments with a stronger effect in the plot without fungicide application.

The distance at which the samples were correlated was 3.6 m in the plot with fungicide application, in contrast to the plot without fungicide where the distance was between 17 and 27 m across rows and at 135° azimuth, respectively. This pattern can be explained as resulting from the management that was given to each plot. More sporangia were formed in the non-treated plot. In the plot without fungicide treatment, large sporulating lesions were observed that provided a larger amount of secondary inoculum. If sporangia are predominantly dispersed by air oospores of *P. infestans* per gram of (Harrison, 1992), then the expectation would be that the higher the number of sporangia produced, the longer the tail of dispersal would be in the prevailing wind direction. The

la parcela no tratada. En la parcela sin tratar con fungicidas se formaron mas esporangios, grandes lesiones de esporulación fueron observadas, las cuales proporcionaron una mayor cantidad de inóculo secundario. Si los esporangios son dispersados predominantemente por el viento (Harrison, 1992), entonces la expectativa sería que cuanto mayor sea el número de esporangios producidos, mayor será la longitud de la cola de dispersión en la dirección del viento. Los vientos del Valle de Toluca predominan en dirección norte-sur, lo que explica la incrementada dependencia espacial en dicha dirección. En contraste con el análisis de autocorrelación, el cual sólo funciona en dos direcciones diferentes, el análisis geoestadístico realizado proporciona una mejor comprensión de la dependencia espacial en diferentes direcciones.

Este estudio describió el patrón espacial del inóculo primario, permitiendo una predicción de la probabilidad de encontrar oosporas en ciertas áreas de campos infestados naturalmente por oosporas. Este trabajo también será útil para ayudar a desarrollar estrategias de muestreo de oosporas en diferentes escalas. El conocimiento de la distribución espacial de oosporas en el suelo proporciona un recurso adicional para el desarrollo de estrategias de manejo más precisas, enfocadas a reducir el impacto de estas estructuras como fuente de inóculo primario.

Se concluye que la severidad de la enfermedad foliar no tuvo influencia sobre la concentración de oosporas en el suelo, pero si la tuvo sobre: a) distribución espacial (el patrón era más homogéneo en la parcela con fungicida que en la parcela sin protección química); b) agregación (agrupaciones más grandes en las parcelas con fungicida); y c) dependencia espacial a cortas distancias en las parcelas con fungicida.

Agradecimientos. Agradecemos a la Secretaría de Desarrollo Agropecuario del Estado de México (ICAMEX), al Programa Internacional Cooperativo del Tizón tardío de la Papa (PCTIPAPA), y al Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma de Chapingo por el uso de su campo y sus instalaciones de laboratorio. También estamos profundamente agradecidos con N. Ruiz-García, C. Góngora-Canul y L. F. Ceja-Torres por su asistencia en la obtención de las muestras de suelo en el campo, así como a Saúl Hernández por su ayuda en la realización de los experimentos de campo.

LITERATURACITADA

- Andersson, B., Sandström, M. and Strömberg, A. 1998. Indications of soilborne inoculum of *Phytophthora infestans*. Potato Research 41:305-310.
- Agrocourier.com. 2011. *Phytophthora infestans* is becoming increasingly aggressive. http://www.bayercropscience.com/bayer/cropscience/csc.ms.nsf/id/Phytophthora_infestans_Agro (consulta, enero 2011).
- Campbell, C.L. and Madden, L.V. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Wiley & Sons. New York. 532p.
- Campbell, C.L. and Noe, J.P. 1985. The spatial analysis of soilborne pathogens and root diseases. Annual Review of Phytopathology 23:129-148.
- winds were predominately in a north-south direction (PCTIPAPA on meteorological station), explaining the greater spatial dependence observed in this direction. In contrast to the autocorrelation analysis, which only works in two different directions, the geostatistical analysis conducted provides a better understanding of the spatial dependence in different directions. This study described the spatial pattern of primary inoculum, enabling a prediction of the likelihood of encountering oospores in certain areas of naturally oospore-infested fields. This work will also be valuable in developing strategies of oospore sampling at different scales. Knowledge of the spatial distribution of oospores in soil provides an additional resource for development of more precise management strategies, focused on reducing the impact of these structures as a source of primary inoculum.
- When comparing the results of this work (oospores in soil) with the complementary part already published [osporulation on leaves (Romero-Montes *et al.*, 2008)], it is concluded that foliage disease severity did not influence the concentration of oospores in soil, but it did over a) spatial distribution (the pattern was more homogeneous in the plot with fungicide than in the one without the chemical protection), b) aggregation (larger clusters in the plots with fungicide), and c) spatial dependence at short distances in the plots with fungicide.
- Acknowledgements.** We thank the State of Mexico Institute for Agriculture Development (ICAMEX), the International Cooperative Program for Potato Late Blight Research (PCTIPAPA), and the Department of Plant Sciences (Fitotecnia), University of Chapingo, for using their field and laboratory facilities. We are also deeply grateful to N. Ruiz-García, C. Góngora-Canul and L. F. Ceja-Torres for their assistance in obtaining the soil samples in the field, as well as to Saúl Hernández for his help in conducting the field experiments.
- Campbell, C.L. and van der Gaag, D.J. 1993. Temporal and spatial dynamics of microsclerotia of *Macrophomina phaseolina* in three fields in North Carolina over four to five years. Phytopathology 83:1434-1440.
- Clark, I. 1987. Practical Geostatistics. Elsevier Applied Science Publishers. New York. 129p.
- Cohen, Y., Farkash, S., Baider, A. and Saw, D.S. 2000. Sprinkling irrigation enhances production of oospores of *Phytophthora infestans* in field-grown crops of potato. Phytopathology 90:1105-1111.
- Drenth, A., Janssen, E.M. and Govers, F. 1995. Formation and survival of oospores of *Phytophthora infestans* under natural conditions. Plant Pathology 44:86-94.
- Fernández-Pavía, S.P., Grünwald, N.J. and Fry, W.E. 2002. Formation of *Phytophthora infestans* oospores in nature ontuber in central Mexico. Plant Disease 86:73.
- Fernández-Pavía, S.P., Grünwald, N.J., Díaz-Valasis, M., Cadena-Hinojosa, M. and Fry, W.E. 2004. Soilborne oospores of *Phytophthora infestans* in central Mexico survive winter fallow and infect potato plants in the field. Plant Disease 88:29-33.

- Flier, W.G., Grünwald, N.J., Fry, W.E. and Turkensteen, L.J. 2001. Formation, production and viability of oospores of *Phytophthora infestans* from potato and *Solanum demissum* in the Toluca Valley, Central Mexico. *Mycological Research* 105:998-1006.
- Fry, W.E. 1977. Integrated control of potato late blight-effects of polygenic resistance and techniques of timing fungicide applications. *Phytopathology* 67:415-420.
- Gallegly, M.E. and Galindo, J. 1958. Mating types and oospores of *Phytophthora infestans* in nature in Mexico. *Phytopathology* 48:274-277.
- Gottwald, T.R., Richie, S.M. and Campbell, C.L. 1992. LCOR2-Spatial correlation analysis software for the personal computer. *Plant Disease* 76:213-215.
- Grünwald, N.J. and Flier, W.G. 2005. The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin. *Annual Review of Phytopathology* 43:171-190.
- Grünwald, N.J., Flier, W.G., Sturbaum, A.K., Garay-Serrano, E., van den Bosch, T.B.M., Smart, C.D., Matuszak, J.M., Lozoya-Saldaña, H., Turkensteen, L.J. and Fry, W.E. 2001. Population structure of *Phytophthora infestans* in the Toluca Valley region of Central Mexico. *Phytopathology* 91:882-890.
- Gumpertz, M.L. 1997. Visualizing spatial patterns. Pp:59-63. *In*: Francl, L.J. and Neher, D.A. (eds.). *Exercises in Plant Disease Epidemiology*. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN.
- Gumpertz, M.L., Larkin, R.P. and Ristaino, J.B. 1997. Geostatistical applications in epidemiology. Pp:94-99. *In*: Francl, L.J. and Neher, D.A. (eds.). *Exercises in Plant Disease Epidemiology*. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN.
- Harrison, J.G. 1992. Effects of the aerial environment on late blight of potato foliage-a review. *Plant Pathology* 41:384-416.
- Isaacks, E.H. and Srivastava, R.M. 1989. *An Introduction to Applied Geostatistics*. Oxford University Press. New York. 561p.
- Jaime-García, R., Orum, T.V., Félix-Gastelum, R., Trinidad-Correa, H., VanEtten, D. and Nelson, M.R. 2001. Spatial analysis of *Phytophthora infestans* genotypes and late blight severity on tomato and potato in the Del Fuerte Valley using geostatistics and geographic information systems. *Phytopathology* 91:1156-1165.
- Langford, D.L., Walega, D.R., Grünwald, N.J. and Fry, W.E. 1998. Relación entre variables meteorológicas y vuelos de esporangios de *Phytophthora infestans* en el Valle de Toluca. *Memorias del 2° Simposium Internacional de la Papa/8° Congreso Nacional de Productores de Papa, Toluca, México*.
- Larkin, R.P., Gumpertz, M.L. and Ristaino, J.B. 1995. Geostatistical analysis of *Phytophthora* epidemic development in commercial bell pepper fields. *Phytopathology* 85:191-203.
- Lecoustre, R., Fargette, D., Fauquet, C. and Reffye, P. 1989. Analysis and mapping of the spatial spread of African Cassava Mosaic Virus using geostatistics and the kriging technique. *Phytopathology* 79:913-920.
- Mayton, H., Smart, C.D., Moravec, B.C., Mizubuti, E.S.G., Muldoon, A.E. and Fry, W.E. 2000. Oospore pathogenicity of single oospore recombinant progeny from across involving US-17 and US-8 genotypes of *Phytophthora infestans*. *Plant Disease* 84:1190-1196.
- Nelson, M.R., Orum, T.V. and Jaime-García, R. 1999. Applications of geographic information systems and geostatistics in plant disease epidemiology and management. *Plant Disease* 83:308-319.
- Niederhauser, J.S. 1991. *Phytophthora infestans*: The mexican connection. Pp:25-45. *In*: Lucas, J.C., Shattock, R.C., Shaw, D.S. and Cooke, L.R. (eds.). *Phytophthora*. J Cambridge University Press. Cambridge.
- Pittis, J.E. and Shattock, R.C. 1994. Viability, germination and infection potential of oospores of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology* 43:387-396.
- Ristaino, J.B. and Gumpertz, M.L. 2000. New frontiers in the study of dispersal and spatial analysis of epidemics caused by species in the genus *Phytophthora*. *Annual Review of Phytopathology* 38:541-576.
- Romero-Montes, G., Lozoya-Saldaña, H., Mora-Aguilera, G., Fernández-Pavía, S. and Grünwald, N.J. 2008. Environment and slow epidemics favor Oosporulation on *Phytophthora infestans* Mont. De Bary, on potato leaves in the Toluca Valley, Mexico. *American Journal of Potato Research* 85:101-109.
- Silva-Rojas, H.V., Fernández-Pavía S.P., Góngora-Canul, C., Macías-López, B.C. and Ávila-Quezada, G.D. 2009. *Phytophthora capsici* Leo. spatio-temporal distribution of pepper (*Capsicum annuum* L.) wilt in Chihuahua and identification of the causal agent *Phytophthora capsici* Leo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 27:134-147.
- Skelsey, P., Kessel, G.J.T., Rossing, W.A.H. and van der Werf, W. 2009a. Parameterization and evaluation of a spatiotemporal model of the potato late blight pathosystem. *Phytopathology* 99:290-300.
- Skelsey, P., Kessel, G.J.T., Rossing, W.A.H. and van der Werf, W. 2009b. Scenario approach for assessing the utility of dispersal information in decision support for aerially spread plant pathogens, applied to *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 99:887-895.
- Skelsey, P., Rossing, W.A.H., Kessel, G.J.T. and van der Werf, W. 2010. Invasion of *Phytophthora infestans* at the landscape level: How do spatial scale and weather modulates the consequences of spatial heterogeneity in host resistance? *Phytopathology* 100:1146-1161.
- Smoot, J.J., Gough, F.J., Lamey, H.A., Eichenmuller, J.J. and Gallegly, M.E. 1958. Production and germination of oospores of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 48:165-171.
- Turkensteen, L.J., Flier, W.G., Wanningen, R. and Mulder, A. 2000. Production, survival and infectivity of oospores of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology* 49:688-696.
- Van der Gaag, D.J. and Frinking, H.D. 1997. Extraction of oospores of *Peronospora viciae* from soil. *Plant Pathology* 46:675-679.
- Xiao, C.L., Hao, J.J. and Subbarao, K. 1997. Spatial patterns of microsclerotia of *Verticillium dahliae* in soil and

Verticillium wilt of cauliflower. Phytopathology 87:325-331.

Zarzycka, H. and Sobkowiak, S. 1997. Formation and survival of *Phytophthora infestans* oospores and their role

as a primary infection source of the pathogen. Plant Breeding and Seed Science 41:27-38.