

Fitomejoramiento

Artículo de investigación científica y tecnológica

Resistencia genética como estrategia para el control de *Phytophthora infestans* en papa (*Solanum tuberosum*)

Genetic resistance as a strategy to control *Phytophthora infestans* in potato (*Solanum tuberosum*)

 Wilson Vásquez-Castillo ¹  Andrea Sevilla Rivadeneira ¹
 Jorge Rivadeneira Ruales ^{2*}  Xavier Cuesta-Subía ²

¹ Universidad de las Américas, (UDLA), Quito, Ecuador.

² Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INIAP, Quito, Ecuador.

*Autor de correspondencia: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INIAP. Av. Eloy Alfaro N30-350 y Av. Amazonas, Quito, Ecuador.
jorge.rivadeneira@iniap.gob.ec

Recibido: 13 de octubre de 2020
Aprobado: 18 de noviembre de 2021
Publicado: 23 de abril de 2022

Editor temático: Andrés Cortés, (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria [AGROSAVIA]), Rionegro, Antioquia, Colombia.

Para citar este artículo: Para citar este artículo: Vásquez-Castillo, W., Sevilla Rivadeneira, A., Rivadeneira Ruales, J., & Cuesta-Subía, X. (2022). Resistencia genética como estrategia para el control de *Phytophthora infestans* en papa (*Solanum tuberosum*). *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 23(2), e2292. DOI https://doi.org/10.21930/rcta.vol23_num2_art:2292

Resumen: La papa (*Solanum tuberosum*) es uno de los cultivos más importantes en la alimentación de la población mundial, después del arroz, el maíz y el trigo. La principal limitante del cultivo a nivel mundial es el tizón tardío (*Phytophthora infestans*) que puede ocasionar la pérdida total si no se realiza un manejo adecuado y oportuno. *P. infestans* muta permanentemente, apareciendo razas nuevas y más agresivas, por el uso indiscriminado de fungicidas y la dispersión mundial del cultivo, donde hay diferentes condiciones ambientales, de suelo y de manejo agronómico. Una estrategia para su control es el manejo integrado de la enfermedad, donde el mejoramiento genético es pilar fundamental. El presente estudio evaluó la resistencia genética de variedades mejoradas, nativas y clones del programa de mejoramiento de INIAP Ecuador a través de los componentes de resistencia: 1) área de la lesión (AL), 2) tasa de crecimiento de la lesión (TCL), 3) periodo de latencia (PL), 4) intensidad de esporulación (IE) y 5) período de incubación (PI). Los genotipos estudiados presentaron una gran variabilidad en la resistencia expresada en sus componentes, así: AL estuvo comprendido entre 0 y 111,50 mm²; TCL presentó un rango entre 0 y 4,69 mm/día; PL obtuvo valores desde 5 hasta 10 días; IE, desde 0 hasta 3, y PI, entre 2 y 8 días. En este estudio, la TCL fue el componente que más discriminó los materiales con resistencia, lo que está acorde con estudios similares. Este componente puede utilizarse para seleccionar genotipos resistentes en fases iniciales y los genotipos con características de resistencia podrían ser utilizados como progenitores en un programa de mejoramiento genético.

Palabras clave: área de la lesión, componentes de resistencia, esporulación, genotipos, mejoramiento genético, periodo de incubación, resistencia genética, tasa de crecimiento de la lesión.

Abstract: Potato (*Solanum tuberosum*) is one of the most important food crops for the world population after rice, corn and wheat. The main limitation is late blight (*Phytophthora infestans*) that can cause total loss if proper and timely management is not carried out. *P. infestans* permanently mutates, appearing new and more aggressive races, because of the indiscriminate use of fungicides and the dispersion of materials around the world, where there are different environmental, soil and agronomic management conditions. One strategy for its control is through the integrated management of the disease, where genetic resistance is the base of this strategy. The present study evaluated the genetic resistance of improved varieties, native and advanced breeding clones of INIAP Ecuador, through the components of resistance: 1) lesion area (AL), 2) lesion growth rate (TCL), 3) latency period (PL), 4) sporulation intensity (IE) and 5) incubation period (PI). The genotypes studied showed great variability in the resistance expressed in its components, thus AL was between 0 and 111.50 mm², TCL presented a range between 0 and 4.69 mm / day, PL obtained values from 5 to 10 days, IE from 0 to 3 and PI between 2 and 8 days. In this study, TCL was the component that most discriminated against materials with resistance, which is consistent with similar studies. This component might be used in preliminary research to identify resistance and some genotypes could be used as parents in a breeding program.

Keywords: Genetic improvement, genetic resistance, genotypes, incubation period, lesion area, lesion growth rate, resistance components, sporulation.



Introducción

La papa, *Solanum tuberosum* L. (Solanaceae), es originaria de los Andes y ha sido cultivada desde hace más de 7.000 años (Román et al., 2015). Es uno de los cultivos alimenticios más importantes en el mundo después del arroz, el maíz y el trigo (Zhang et al., 2017). China es el mayor productor mundial de papa, seguido de Rusia, India, Ucrania y Estados Unidos (Food and Agriculture Organization [FAO], 2018). En Ecuador, la producción de papa en el 2019 fue de 275.346 toneladas, cultivadas en 19.675 hectáreas, con un rendimiento promedio de 13,99 t/ha (Instituto Nacional de Estadística y Censos [INEC], 2019).

El cultivo de papa puede ser afectado por factores bióticos y abióticos que reducen la producción y afectan la calidad del producto (Dahal et al., 2019; Mohanta et al., 2017). Una de las principales enfermedades que afecta la papa en el mundo es el tizón tardío, provocado por el oomicete *Phytophthora infestans*, que puede destruir los cultivos en pocos días si no se toman acciones (Fry et al., 2015; Lenman et al., 2016), y que provoca grandes pérdidas económicas que llegan a 3,5 billones de dólares anuales en países en vías de desarrollo y más de 5 billones en todo el mundo (Plich et al., 2016).

Phytophthora infestans (Mont.) de Bary pertenece al filo Oomycota, orden Peronosporales, familia Peronosporaceae (Subhani, 2016). Las paredes celulares contienen celulosa y β -glucanos, y no pueden sintetizar esteroides. Los oomicetes evolucionaron dentro del reino eucariota de Stramenopila, que incluye algas marinas, como diatomeas, y algas pardas (Jiang & Tyler, 2012). Los primeros reportes de patogenicidad en solanáceas fueron a mediados del siglo XX y su descubrimiento en el siglo XIX (Michalska et al., 2016). Existen más de 150 especies conocidas de *Phytophthora* a nivel mundial y todas son patogénicas, colonizan diferentes estructuras de las plantas hospedadoras como raíces, tubérculos, follaje, frutos y tallos herbáceos y leñosos (Chepersogon et al., 2020; Yang et al., 2017).

Durante el ciclo de infección, el patógeno produce esporangios multinucleados y las zoosporas uninucleadas móviles. *P. infestans* muta permanentemente, apareciendo nuevas y agresivas variantes denominadas *razas* (Whisson et al., 2016). Estas mutaciones del patógeno se deben a la presión de selección, en parte por el uso indiscriminado de fungicidas sistémicos y a la dispersión de los materiales comerciales de solanáceas a diferentes latitudes del mundo (Hwang et al., 2014). *Phytophthora infestans* es heterotálico debido a que tiene dos tipos de apareamiento (A1 y A2) (Chowdappa et al., 2015). En Ecuador, se ha identificado solo el apareamiento A1 (Delgado et al., 2013; Forbes et al., 1997). La diferencia no se basa en un dimorfismo sexual, sino en la autoincompatibilidad y la necesidad de la presencia del tipo de apareamiento opuesto para generar una respuesta hormonal y formar las estructuras de reproducción sexual, las oosporas (Alor, 2015). Por otra parte, las estructuras de reproducción asexual, los esporangios, germinan en agua libre y a bajas temperaturas (13-21 °C), liberando zoosporas uninucleadas y biflageladas (Yitagesu, 2019).

En humedad relativa (90 %), las zoosporas desarrollan un tubo germinativo y penetran la hoja por las estomas o los apresorios; una vez en el interior del tejido de la planta, el micelio forma haustorios en el interior de las células (Pérez & Forbes, 2008; Yitagesu, 2019). Los esporangios se dispersan fácilmente a través del viento y la lluvia, y pueden sobrevivir en residuos vegetales (García et al., 2016; Hwang et al., 2014). En promedio, el ciclo asexual de los esporangios es de

cinco días (Fry, 2008). En el campo, el patógeno se multiplica varias veces durante el ciclo del cultivo, produciendo millones de esporas y un incremento permanente de la enfermedad, pudiendo eliminar al cultivo en diez días en condiciones favorables para el patógeno (Sun et al., 2016).

La virulencia de una raza de *P. infestans* es la habilidad genética para vencer la resistencia del hospedante (genes R), mientras que la agresividad es el daño que causa el patógeno al hospedero en un determinado tiempo. La resistencia del hongo a fungicidas sintéticos se determina por la disminución de la sensibilidad como resultado de mutaciones (Pérez & Forbes, 2008). Los síntomas del tizón tardío en las hojas presentan manchas irregulares necróticas marrones, con apariencia húmeda, no limitadas por nervaduras. Las manchas al inicio aparecen en el borde y ápice del foliolo, mientras que en el envés está el micelio, que contiene los esporangióforos, y estos a los esporangios, produciendo la muerte del tejido debido a la expansión y necrosis (Pérez & Forbes, 2008). Cuando afecta a los tubérculos, estos se decoloran en la superficie, presentando depresiones necróticas irregulares que ocasionan la pudrición seca en el interior y que dan lugar al ingreso de patógenos secundarios como bacterias y hongos (Alor, 2015).

El control del tizón tardío se recomienda a través del manejo integrado, considerando la resistencia genética, prácticas culturales y el control químico (Moncayo et al., 2019). Dentro de la resistencia genética está la reacción de hipersensibilidad, que es un tipo de defensa activa de las plantas, ya que reacciona tan pronto como el patógeno intenta invadirlo (Niks et al., 2019). El mejoramiento genético permite desarrollar variedades resistentes, mediante el uso de fuentes de resistencia de las variedades cultivadas, nativas, materiales introducidos, en especies emparentadas y silvestres (Gabriel et al., 2016). La resistencia puede ser dada a través de genes mayores (R), que se incorporan a las variedades; sin embargo, esta resistencia puede ser de corta duración, debido a la especificidad y mutación del patógeno (Rubio et al., 2016). Esto permitió a los fitomejoradores desarrollar materiales con resistencia parcial (genes menores). No obstante, es difícil reconocer plantas con un nivel sustancial de resistencia, debido a la herencia poligénica (Niks et al., 2019).

Estudios genéticos han revelado que los genes menores y mayores pueden encontrarse en *loci* similares dentro del cromosoma e, incluso, ser alelos del mismo gen (Abou-Taleb et al., 2010). Para diferenciar ambos tipos de resistencia, se pueden usar marcadores moleculares asociados a QTL para los genes R. De acuerdo con Lebecka y Sobkowiak (2013), Michalska et al. (2016), Njoroge et al. (2019) y Vleeshouwers et al. (1999), otra forma de evaluar la resistencia es mediante los componentes de la resistencia misma, que considera el área de la lesión (AL), la tasa de crecimiento de la lesión (TCL), el periodo de latencia (PL), la intensidad de esporulación (IE) y el periodo de incubación (PI). Estas evaluaciones pueden realizarse en campo y en condiciones controladas (Rubio et al., 2016).

Esta investigación tiene como objetivo evaluar la resistencia genética de *P. infestans* mediante los componentes AL, TCL, PL, IE y PI, en clones bajo condiciones de laboratorio e identificar la relación entre los componentes para su uso en programas de mejoramiento para resistencia.

Materiales y métodos

El presente trabajo se desarrolló en los invernaderos y laboratorios de la Estación Experimental Santa Catalina, del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), en la provincia de Pichincha, Ecuador, a una altura de 3.065 m s.n.m., ubicados en las coordenadas 78°33'6,19"O, 00°22'02,91"S. En el estudio se evaluaron cinco variedades mejoradas comerciales y veintitrés clones del Programa de Mejoramiento de Papa del INIAP (tabla 1). La siembra se realizó en invernadero (temperaturas máxima y mínima en promedio de 28 °C y 7 °C, respectivamente; HR: 70 %), en macetas con sustrato desinfectado al vapor, con un tubérculo por maceta. El manejo agronómico de enfermedades y nutrición de las plantas de papa se realizó con base en el protocolo del Programa de Papa del INIAP (Cuesta et al., 2020), excepto para *P. infestans*.

Para las inoculaciones, se utilizó un aislado de una raza compleja con once factores de virulencia de *P. infestans* (1, 2, 3... 11), obtenida en campos de producción de papa de la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP. Para ello, se recolectaron muestras de las hojas infectadas (con una sola lesión). Las hojas se colocaron en cajas Petri de plástico con tapa, a temperatura ambiente (14 °C-16 °C) y a 90 % de HR, para favorecer la esporulación. Cuando el micelio fue visible, se aisló el patógeno y se sembró en cajas Petri con medio de cultivo agarcenteno combinado con una solución de bactericidas (vancomycin, plymixin B, ampicillin, rifampicin) y fungicidas (pentaclorinitrobenzeno y benlate).

Se mantuvieron las cajas Petri en incubación a 15 °C-18 °C por cinco días hasta que el desarrollo de micelio fue suficiente para multiplicar y purificar la muestra, sembrando en nuevas cajas Petri con el mismo medio de cultivo y tomando micelio de la parte superior en los puntos de esporulación más abundantes, con apariencia blanca y homogénea, sin contaminación visible. Se realizó esta multiplicación hasta que el crecimiento del micelio del aislado dentro de los cinco días de incubación fue homogéneo y la esporulación abundante, asegurando que el aislado estuviera vivo y mantuviera su virulencia hasta ser utilizado en la evaluación.

Previo a la inoculación de los folíolos, se realizó una solución a partir del aislado almacenado con la que se inocularon las hojas sanas de la variedad Superchola (susceptible), que previamente se desinfectaron sumergiéndolas en una solución con cloro al 5 % por 30 segundos; luego, se realizó un doble enjuague con agua destilada y se retiró el exceso de agua con papel filtro esterilizado. Las hojas inoculadas se colocaron en cajas plásticas a temperatura ambiente (14 °C-16 °C) en condiciones de alta humedad relativa (80 %-90 %) para estimular el crecimiento del micelio y la esporulación. Se realizó un lavado de las hojas con una piseta para obtener los esporangios y se filtró la solución a través de una malla de 20 µm para eliminar impurezas. Con la cámara de Neubauer, se ajustó la concentración a 40.000 esporangios/mL en dilución con agua destilada y se almacenó en refrigeración (3 °C-5 °C) por un periodo de tres horas para obtener las zoosporas (concentración de zoosporas a 2.000 por mL con un hemocitómetro; se determinó un total de 20 zoosporas: 10 cuadrículas × 1.000 = zoosporas/mL) (Gamboa et al., 2019).

Se recolectaron folíolos desarrollados del tercio superior de las plantas de ocho semanas de edad del invernadero, y se colocaron tres folíolos con el envés hacia arriba en cada caja Petri con agar-agua al 10 %. Se inoculó junto a la nervadura central 35 µL de la suspensión del inóculo a cada

foliolo. Las cajas Petri con los foliolos se conservaron en incubación (15 °C-8 °C), con un fotoperiodo de 12 horas.

Tabla 1. Genotipos de papa utilizados para la evaluación de los componentes de la resistencia al tizón tardío (*Phytophthora infestans*), Pichincha, Ecuador.

Genotipo	Pedigrí
INIAP-Libertad *	380479.15 × Bk Precoz-84
INIAP-Josefina	Bolona × (<i>S. phureja</i> x <i>S. paucissectum</i>)
INIAP-Estela	Súperchola × (<i>S. phureja</i> x <i>S. paucissectum</i>)
INIAP-Raymipapa	378979.461 × Bulk Seedl. 79/80 Mex
Chiwuila Roja*	Especie nativa <i>Solanum stenotomum</i>
11-9-106	98-11-6 × 99-11-6
11-9-172	98-11-6 × 99-11-6
11-9-44	98-11-6 × 99-11-6
11-9-133	98-11-6 × 99-11-6
11-9-101	98-11-6 × 99-11-6
11-9-9	98-11-6 × 99-11-6
11-9-64	98-11-6 × 99-11-6
11-9-66	98-11-6 × 99-11-6
11-9-28	98-11-6 × 99-11-6
11-9-27	98-11-6 × 99-11-6
11-9-77	98-11-6 × 99-11-6
11-9-108	98-11-6 × 99-11-6
11-9-112	98-11-6 × 99-11-6
12-4-173	HSO 198 × Leona Negra
12-4-45	HSO 198 × Leona Negra
12-4-175	HSO 198 × Leona Negra
12-4-145	HSO 198 × Leona Negra
12-4-72	HSO 198 × Leona Negra
12-6-29	BOM 532 × Leona Negra
12-2-6	BOM 540 × Leona Negra
07-32-15	BOM 532 × HSO 213
14-9-56	0-50 × Victoria
11-8-6	BOM 540 × HSO 198

* Testigos: INIAP-Libertad (material resistente) y Chiwuila roja (material susceptible).

Fuente: Elaboración propia

Se utilizó un diseño completamente al azar con seis repeticiones. La unidad experimental estuvo representada por un foliolo de cada genotipo. Previo al análisis, se revisó la normalidad de los datos a través de Shapiro (Shapiro & Francia, 1972). Para las variables que no tuvieron distribución normal, se realizó una transformación de raíz cuadrada más uno. Para las variables que presentaron diferencias estadísticas entre genotipos, se utilizó la prueba de separación de medias Tukey al 5 % y para establecer la asociación entre las variables se realizó un análisis de correlación de Pearson. Para la variable IE, se reportaron los valores promedio. Para el análisis,

se utilizó el programa estadístico Infostat. Las variables en estudio fueron los componentes de la resistencia con base en lo descrito por Lebecka y Sobkowiak (2013), Michalska et al. (2016), Njoroge et al. (2019) y Vleeshouwers et al. (1999). El periodo de incubación (PI) se obtuvo contando el número de días transcurridos desde la inoculación hasta el apareamiento del primer síntoma de infección en el sitio de la inoculación. El período de latencia (PL) se estableció contando el número de días transcurridos entre la inoculación y la esporulación del patógeno. Para el área de lesión (AL; mm²), se tomó una fotografía al octavo día de la inoculación a los folíolos afectados para cálculo del área (mm²) de la lesión mediante el programa Image J (Schneider et al., 2012).

Para la tasa de crecimiento de la lesión (TCL), se obtuvo el área de la lesión mediante el programa Image J (Schneider et al., 2012). Dicha área (A) se usó para calcular la media del radio de la lesión $r = \sqrt{\frac{A}{\pi}}$. Posteriormente, se estimó la tasa de crecimiento de la lesión mediante una regresión lineal de los cuatro días sucesivos de mediciones sobre la misma lesión (Visker et al., 2003; Vleeshouwers et al., 1999). La intensidad de esporulación (IP) se evaluó al segundo día, luego de iniciada la esporulación (PL), mediante la escala utilizada por Michalska et al. (2016): 0 = ausencia de esporulación, 1 = esporulación baja (hasta 25 ramificaciones de los esporangióforos por mm²), 2 = esporulación media o abundante (hasta 100 ramificaciones de esporangióforos por mm²), 3 = esporulación muy abundante (hasta 300 ramificaciones de esporangióforos por mm²).

Resultados y discusión

Periodo de incubación

El análisis de varianza permitió detectar diferencias significativas al 1 % entre genotipos (tabla 2). La prueba de Tukey (5 %) permitió detectar cuatro rangos. Los clones 11-9-106, 11-9-108, 11-9-112, 11-9-133, 12-4-145, 14-9-56 y las variedades INIAP-Josefina, INIAP-Libertad e INIAP-Raymipapa presentaron el PI más largo. El primer signo de la enfermedad se presentó al octavo día, mientras que en los genotipos 11-9-64, 11-9-9, 11-9-77 y en la especie nativa Chiuila roja, el PI más corto, la primera lesión de la enfermedad se presentó al segundo día. El resto de los materiales presentaron los síntomas de la enfermedad entre tercer al quinto día después de la inoculación (tabla 3). Andrivon et al. (2003) al evaluar el periodo de incubación en progenies de *S. bertabultii*, *S. pbureja*, *S. tuberosum*, y *S. vernei*, se determinó que el periodo de incubación fue entre 3,71 y 4,63 días. Por su parte Fry y Grünwald (2010) reportaron que los primeros signos de infección aparecen a partir de los dos o tres días de la infección.

Área de la lesión

Los genotipos presentaron diferencias estadísticas para el área de la lesión a los ocho días después de la inoculación (tabla 2). Los genotipos 12-4-173, 12-2-6 y 12-4-72 presentaron un área de la lesión con valores menores a 369,00 mm², mientras que la variedad nativa Chiuila roja presentó la mayor área de lesión con 1.111,50 mm² (tabla 3). Rivadeneira et al. (2020), al evaluar AL de *P. infestans* en variedades mejoradas, encontraron valores menores a 54,46 mm². Por su parte, Andrivon et al. (2003), al evaluar el AL en progenies de *S. bertabultii*, *S. pbureja*, *S. tuberosum* y *S. vernei*, también presentaron valores entre 45 a 122 mm². Posiblemente, los altos promedios de

AL en este estudio se deben a la inoculación de la raza compleja con once factores de virulencia de *P. infestans* y a la variabilidad en la susceptibilidad de los materiales estudiados.

Tabla 2. Análisis de varianza para los componentes de resistencia PI, AL, TCL y PL a *Phytophthora infestans* en genotipos de papa, Pichincha, Ecuador

Cuadrados medios				
Fuente de Variación	PI (d) (n = 28)	AL (mm ²) (n = 19)	TCL (mm/día) (n = 19)	PL(d) (n = 28)
Total				
Genotipos	1,36**	183,40**	3,19**	0,51**
Error	0,02	14,25	0,58	0,01
CV (%)	6,62	15,28	22,48	3,13
Promedio	4,75 días	651,41 mm ²	3,38 mm/día	7,94 días

Nota: PI = periodo de incubación; AL = área de lesión; TCL = tasa de crecimiento de la lesión; PL = periodo de latencia; **significativo al 1 %; CV = coeficiente de variación; n = genotipos evaluados.

Tasa de crecimiento de la lesión

Se determinaron diferencias significativas (1 %) entre los genotipos para esta variable (tabla 2). Los materiales 12-4-173, 12-2-6, 12-4-72 11-8-6, 12-4-45 y 12-4-175 presentaron la menor TCL con valores menores a 2,91 mm/día, mientras que el clon 11-9-66 presentó el mayor tamaño con 4,69 mm/día (tabla 3). A pesar de utilizar una raza compleja con 11 factores de virulencia de *P. infestans*, permitió identificar genotipos de papa con una respuesta de resistencia a la enfermedad. Estos resultados son similares a los reportados por Vleeshouwers et al. (1999) en dos variedades y Colon et al. (1995) en ocho especies de *Solanum*, con valores entre 1,40 mm/día a 3,55 mm/día y 0,98 mm/día a 4,16 mm/día, respectivamente.

Periodo de latencia

Para esta variable, se detectó que existen diferencias entre los genotipos (tabla 2). Al realizar el análisis funcional (Tukey 5 %), se establecieron seis rangos, siendo los genotipos 11-9-106, 11-9-108, 11-9-112, 11-9-133, 12-4-145, 14-9-56, 07-32-15 y las variedades INIAP-Josefina, INIAP-Libertad e INIAP-Raymipapa las que no mostraron esporulación hasta el último día de evaluación (10 días). Por su parte, los clones 12-4-72, 12-4-173, 12-2-6, 12-4-175 presentaron un PL entre 7,67 a 8,67 días. Los clones 12-6-29, 11-9-28, 11-9-44, 11-9-77, 11-8-6, 11-9-9 y la especie nativa Chiwuila roja se ubicaron en los últimos rangos con el PL más corto entre 5,00 a 6,33 días, siendo estos los genotipos que presentaron los signos visibles de esporulación (micelio) al quinto y sexto día luego de la inoculación (tabla 3). Los PL obtenidos mostraron periodos largos y en otros clones, no presentaron esporulación, lo que induce una respuesta de resistencia de los clones a *P. infestans*. Un estudio que evaluó el PL en progenitores y progenies presentó valores menores entre 3,00 y 4,25 días (Jaramillo, 2015).

Intensidad de esporulación

Los clones 11-9-106, 11-9-108, 11-9-112, 11-9-133, 12-4-145, 14-9-56 y las variedades INIAP Josefina, INIAP-Libertad e INIAP-Raymipapa presentaron ausencia de esporulación, mientras los clones 07-32-15 y 11-9-172 presentaron una baja esporulación, ubicándose en la escala 1. Los genotipos que se ubicaron con esporulación media (escala 2) fueron las variedades INIAP-Estela, Chiuwila roja y los clones 12-2-6, 12-4-72, 12-4-45, 11-9-77, 11-9-44, 11-9-101, 12-4-175, 11-9-9, 11-9-64, 11-9-27, 11-9-66. Los genotipos que presentaron abundante esporulación (escala 3) fueron 12-4-173, 11-8-6, 11-9-28 y 12-6-29 (tabla 3). La variedad nativa Chiuwila (testigo susceptible) se ubicó en la escala 2, debido a la presencia de clones con mayor susceptibilidad a *P. infestans*, de acuerdo con este componente de resistencia. Jaramillo (2015), al evaluar IE del tizón tardío en progenitores y progenies de papa, obtuvo materiales únicamente con baja y media esporulación. Cachipundo (2019), al evaluar IE de *P. infestans* en variedades mejoradas, encontró valores bajos y medios de IE, solo un 25 % de la variedad susceptible DIACOL Capiro presentó abundante esporulación.

Los genotipos 12-4-173, 12-2-6 y 12-4-72 que presentaron el PI más largo, el menor AL menor TCL y el PL más largo se pueden considerar como materiales resistentes, mientras que el clon 12-6-29 y la especie nativa Chiuwila roja fueron los que tuvieron mayor AL, TCL y una IE abundante a media, por lo que se le consideran los materiales más susceptibles a la enfermedad.

Los genotipos 14-9-56, 11-9-112, 11-9-133, 11-9-106, 12-4-145, 11-9-108, INIAP-Libertad, INIAP-Josefina e INIAP-Raymipapa no presentaron síntomas de *P. infestans* a los diez días de evaluación respecto al PI, AL, TCL y PL. Los materiales no presentan síntomas de la enfermedad durante el tiempo de evaluación que se obtuvo en las condiciones de campo de la Estación Experimental Santa Catalina Pichincha, Ecuador. Rubio et al. (2016) y Vleeshouwers et al. (2000) manifestaron que este tipo de reacción de hipersensibilidad (RH) no es exclusivo en genotipos con genes R, sino que puede presentarse en otras especies de papa con diferentes niveles de resistencia al tizón tardío. En este caso, la velocidad y efectividad de RH para controlar la infección se asocia con niveles de resistencia de los genotipos.

Análisis de correlación

Al realizar la correlación de Pearson, entre los componentes de resistencia a *P. infestans*, de los diferentes materiales de papa, se pudo determinar que estos mostraron una relación significativa al 1 % en todos los casos. Sin embargo, la correlación entre PI con AL, TCL, y IE fue inversamente proporcional, ya que presentó valores negativos; es decir, a mayor PI, se espera un menor PL, AL, TCL y IE. Este mismo comportamiento se pudo observar cuando se realizó la correlación entre el PL con los componentes AL, TCL y EI (tabla 4). Por su parte, la correlación de Pearson entre PI con PL, AL con TCL e IE y LCT con IE fueron positivas y significativas al 1 %, por lo que son directamente proporcionales (tabla 4). Por eso, este componente podría utilizarse como un indicador del nivel de resistencia a *P. infestans*.

Tabla 3. Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey (5 %) para los componentes de resistencia PI, AL, TCL, PL e IE de 28 genotipos de papa, Pichincha, Ecuador.

Genotipos	PI ¹ (días)	PL ¹ (días)	AL ¹ (mm ²)	TCL ¹ (mm/día)	IE ² (Escala)
11-9-106	8,00 ± 0,00a	10,00 ± 0,00a	-	-	0
11-9-108	8,00 ± 0,00a	10,00 ± 0,00a	-	-	0
11-9-112	8,00 ± 0,00a	10,00 ± 0,00a	-	-	0
11-9-133	8,00 ± 0,00a	10,00 ± 0,00a	-	-	0
12-4-145	8,00 ± 0,00a	10,00 ± 0,00a	-	-	0
14-9-56	8,00 ± 0,00a	10,00 ± 0,00a	-	-	0
INIAP Josefina	8,00 ± 0,00a	10,00 ± 0,00a	-	-	0
INIAP Libertad	8,00 ± 0,00a	10,00 ± 0,00a	-	-	0
INIAP Raymipapa	8,00 ± 0,00a	10,00 ± 0,00a	-	-	0
12-4-173	4,17 ± 2,14 bcd	7,67 ± 0,52 bc	193,27 ± 114,19a	1,82 ± 0,97a	3
12-2-6	4,33 ± 0,52 bc	7,67 ± 0,82 bc	297,39 ± 140,93 ab	2,49 ± 0,77 ab	2
12-4-72	5,08 ± 1,20 b	8,25 ± 0,99 b	368,00 ± 246,91 ab	2,83 ± 1,41 abc	2
11-8-6	3,00 ± 0,00 cd	6,33 ± 0,41 de	393,50 ± 18,21 abc	2,77 ± 0,03 abc	3
12-4-45	3,50 ± 0,55 bcd	6,67 ± 0,52 cd	434,78 ± 128,72 abc	2,70 ± 0,76 abc	2
07-32-15	3,00 ± 0,63 cd	10,00 ± 0,00 a	439,71 ± 165,36 abc	3,27 ± 0,87 abcde	1
11-9-77	2,50 ± 0,55d	6,00 ± 0,00de	494,09 ± 69,69 abcd	3,32 ± 0,36 abcde	2
11-9-172	3,00 ± 0,00 cd	6,80 ± 0,75 cd	615,93 ± 363,82 bcde	3,05 ± 1,14 abcd	1
11-9-44	3,33 ± 0,41 bcd	6,33 ± 0,41 de	628,97 ± 125,91 bcde	3,22 ± 0,50 abcde	2
11-9-101	3,33 ± 0,52 bcd	7,00 ± 1,10 cd	641,36 ± 112,02 bcde	3,36 ± 0,57 abcde	2
12-4-175	3,33 ± 0,41 bcd	8,67 ± 1,63b	739,20 ± 56,69cde	2,90 ± 0,96 abc	2
11-9-9	2,33 ± 0,52d	6,17 ± 0,41 de	805,45 ± 143,67 def	3,57 ± 0,44 cdef	2
11-9-28	3,00 ± 0,00 cd	5,33 ± 0,41 ef	817,10 ± 169,04 def	3,89 ± 0,16 bcde	3
INIAP Estela	3,00 ± 0,89 cd	7,50 ± 0,55 bc	859,09 ± 222,85 ef	4,01 ± 0,97 bcde	2
11-9-64	2,00 ± 0,00 d	6,67 ± 0,41 cd	862,61,27 ± 112,39 ef	3,95 ± 0,31 bcde	2
12-6-29	3,50 ± 0,55 bcd	5,00 ± 0,00f	876,23 ± 119,71 ef	3,64 ± 0,48 bcde	3
11-9-27	3,00 ± 0,00 cd	7,00 ± 0,00 cd	893,58 ± 196,26 ef	4,57 ± 0,68 de	2
11-9-66	3,00 ± 0,00 cd	7,00 ± 0,63 cd	919,50 ± 198,49 ef	4,69 ± 0,89 e	2
Chiwuila roja	2,67 ± 0,82d	6,17 ± 0,41 de	1111,50 ± 215,45g	4,15 ± 0,66 cde	2

PI = Período de Incubación; AL = Área de Lesión; TCL = Tasa de Crecimiento de la Lesión; PL = Período de Latencia; IE = Intensidad de Esporulación; ¹valores promedios ± desviación estándar seguidos de la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey al 5 %); ²0 = ausencia de esporulación; 1 = esporulación baja; 2 = esporulación media o abundante; 3 = esporulación muy abundante.

Tabla 4. Coeficientes de correlación de Pearson entre los componentes de resistencia a tizón tardío, Pichincha, Ecuador

	PI	PL	AL	TCL	IE
PI	1				
PL	0,81**	1			
AL	-0,84**	-0,74**	1		
TCL	-0,89**	-0,76**	0,93**	1	
IE	-0,76**	-0,82**	0,64**	0,72**	1

**Significativo al 1%; PI = Periodo de Incubación; AL = Área de la Lesión; TCL = Tasa de Crecimiento de la Lesión; PL = Periodo de Latencia; IE = Intensidad de Esporulación.

Conclusiones

Existió variación de la resistencia a tizón tardío expresada en sus componentes, lo que permitió identificar genotipos de papa con características de resistencia que podrían utilizarse dentro del programa de mejoramiento genético de papa para su uso como progenitores para el desarrollo de nuevas variedades. Específicamente, la tasa de crecimiento de la lesión (TCL) fue el componente que mayor asociación mostró con los otros, por lo que este componente podría utilizarse en pruebas preliminares de selección para identificar germoplasma con características de resistencia a *P. infestans*. Finalmente, se identificaron al menos ocho clones que mostraron una respuesta de resistencia en la mayoría de los componentes evaluados a tizón tardío; no obstante, es necesario validar su respuesta a *P. infestans* bajo condiciones de campo.

Agradecimientos

Agradecemos al Proyecto PAPA CLIMA - Marker assisted selection for potato germplasm adapted to biotic and abiotic stresses caused by global climate change, de la Tercera Convocatoria del Fondo de Distribución de Beneficios de FAO - The International Treaty of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture, with the financial assistance of the European Union.

Descargos de responsabilidad

Los autores declaran que están de acuerdo con la publicación de este artículo y no existen conflictos de interés.

Referencias

- Abou-Taleb, E. M., Aboshosha, S. M., El-Sherif, E. M., & El-Komy, M. H. (2010). Genetic diversity among late blight resistant and susceptible potato genotypes. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 17(2), 133-138. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.02.006>
- Alor, N. (2015). *Caracterización de Phytophthora infestans y mejora genética para la resistencia en patata* [Tesis doctoral, Universitat de Lleida, Lleida, España]. Repositorio TDX. <https://www.tdx.cat/handle/10803/286188>
- Andrison, D., Corbière, R., Lucas, J. M., Pasco, C., Gravouelle, J.M., Pellé, R., Dantec, J. P., & Ellissèche, D. (2003). Resistance to late blight and soft rot in six potato progenies and glycoalkaloid contents in the tubers. *American Journal of Potato Research*, 80, 125-134. <https://doi.org/10.1007/BF02870211>
- Cachipuendo, W. (2019). Evaluación de la resistencia a tizón tardío (*Phytophthora infestans*) (Mont.) de Bary en cinco genotipos de papa (*Solanum tuberosum* L.) [Tesis de pregrado, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/17656>
- Chepersgon, J., Motaung T. E., Bellieny-Rabelo D., & Moleleki, L. N. (2020). Organize, don't agonize: Strategic success of *Phytophthora* species. *Microorganisms*, 8(6), 917. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060917>
- Chowdappa, P., Nirmal Kumar, B., Madhura, S., Mohan, S., Myers, K., Fry, W., & Cooke, D. (2015). Severe outbreaks of late blight on potato and tomato in south India caused by recent changes in the *Phytophthora infestans* population. *Plant Pathology*, 64, 191-199. <https://doi.org/10.1111/ppa.12228>
- Colon, L. T., Budding, D. J., Keizer, L. C. P., & Pieters, M. M. J. (1995). Components of resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in eight South American *Solanum* species. *European Journal of Plant Pathology*, 101, 441-456. <https://doi.org/10.1007/BF01874858>
- Cuesta, H. X., Rivadeneira, J. E., & Monteros, C. (2020). *Mejoramiento genético de papa: conceptos, procedimientos, metodologías y protocolos*. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5649>
- Dahal, K., Li, X.Q., Tai, H., Creelman, A., & Bizimungu, B. (2019). Improving potato stress tolerance and tuber yield under a climate change scenario - a current overview. *Frontiers in Plants Science*, 10, 563. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00563>
- Delgado, R. A., Monteros-Altamirano, A. R., Li, Y., Visser, R. G. F., van der Lee, T. A. J., & Vosman, B. (2013). Large subclonal variation in *Phytophthora infestans* populations associated with Ecuadorian potato landraces. *Plant Pathology*, 62(5), 1081-1088. <https://doi.org/10.1111/ppa.12039>
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2018). *FAOSTAT Statistics Database*. <http://www.fao.org/faostat/en/#data>
- Forbes, G. A., Escobar, X. C., Ayala, C. C., Revelo, J., Ordoñez, M. E., Fry, B. A., Doucett, K., & Fry, W. E. (1997). Population genetic structure of *Phytophthora infestans* in Ecuador. *Phytopathology*, 87(4), 375-380. <https://doi.org/10.1094/PHTO.1997.87.4.375>
- Fry, W. E., Birch, P. R. J., Judelson, H. S., Grünwald, N. J., Danies, G., Everts, K.L., Gevents, A. J., Gugino, B. K., Johnson, D. A., Johnson, S. B., McGrath, M. T., Myers, K. L., Ristaino, J. B., Roberts, P. D., Secor, G., & Smart, C. D. (2015). Five reasons to consider *Phytophthora infestans* a reemerging pathogen. *Phytopathology*, 105(7), 966-981. <https://doi.org/10.1094/PHTO-01-15-0005-FI>

- Fry, W., & Grünwald, N. J. (2010). Introduction to Oomycetes. *The Plant Health Instructor*. <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/oomycete/introduction/Pages/IntroOomycetes.aspx>
- Fry, W. (2008). *Phytophthora infestans*: the plant (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology*, 9(3), 385-402. <https://doi.org/10.1111/J.1364-3703.2007.00465.X>
- Gabriel, J., Veramendi, S., Pinto, L., Pariente, L., & Angulo, A. (2016). Asociaciones de marcadores moleculares con la resistencia a enfermedades, caracteres morfológicos y agronómicos en familias diploides de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 18(1), 17-32. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n1.57712>
- Gamboa, S., Pérez, W., Andrade-Piedra, J. L., & Forbes, G. (2019). *Laboratory manual for Phytophthora infestans work at CIP*. <https://hdl.handle.net/10568/105663>
- García, D., Morales, A., & Molina, O. (2016). Estudio de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary en 30 cultivares de papa (*Solanum tuberosum* L.) y su relación con las variables climáticas. *Revista Agricultura Tropical*, 2, 57-66.
- Hwang, Y. T., Wijekoon, C., Kalischuk, M., Johnson, D., Howard, R., Prüfer, D., & Kawchuk, L. (2014). Evolution and Management of the Irish Potato Famine Pathogen *Phytophthora infestans* in Canada and the United States. *American Journal of Potato Research*, 91, 579-593. <https://doi.org/10.1007/s12230-014-9401-0>
- Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC). (2019). *Encuesta y superficie y producción agropecuaria continua*. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/>
- Jiang, R. H. Y., & Tyler, B. M. (2012). Mechanisms and Evolution of Virulence in Oomycetes. *Annual Review of Phytopathology*, 50(1), 295-318. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-172912>
- Jaramillo, P. (2015). Estudio de los componentes genéticos de la resistencia al tizón tardío (*Phytophthora infestans*) (Mont.) de Bary en papa (*Solanum phureja*) Cutuglahua, Pichincha [Tesis de pregrado, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6436>
- Lebecka, R., & Sobkowiak, S. (2013). Host-pathogen interaction between *Phytophthora infestans* and *Solanum tuberosum* following exposure to short and long daylight hours. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 1131-1139. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1150-4>
- Lenman, M., Ali, A., Mühlenbock, P., Carlson-Nilsson, U., Liljeroth, E., Champouret, N., Vleeshouwers, V. G. A., Andreasson, E. (2016). Effector-driven marker development and cloning of resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato breeding clone SW93-1015. *Theoretical and Applied Genetics*, 129, 105-115. <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2613-y>
- Michalska, A. M., Sobkowiak, S., Flis, B., & Zimnoch-Guzowska, E. (2016). Virulence and aggressiveness of *Phytophthora infestans* isolates collected in Poland from potato and tomato plants identified no strong specificity. *European Journal of Plant Pathology*, 144, 325-336. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0769-6>
- Mohanta, T. K., Bashir, T., Hashem, A., & Abd-Allah, E. F. (2017). Systems biology approach in plant abiotic stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 121, 58-73. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.10.019>
- Moncayo, J., Delgado, R., Marcillo, C., Salazar, C., & Betancourth, C. (2019). Genotype reaction of *Solanum tuberosum*, *andigena* and *phureja* groups to late blight (*Phytophthora infestans* Mont. De Bary). *Revista de Ciencias Agrícolas*, 36, 138-157. <https://doi.org/10.22267/rcia.1936E.113>
- Niks, R. E., Parlevliet, J. E., Lindhout, P., & Bai, Y. (2019). *Breeding crops with resistance to diseases and pests*. Wageningen Academic Publishers. <https://doi.org/10.3920/978-90-8686-882-7>

- Njoroge, A. W., Andersson, B., Yuen, J. E., & Forbes, G. A. (2019). Greater aggressiveness in the 2_A1 lineage of *Phytophthora infestans* may partially explain its rapid displacement of the US-1 lineage in east Africa. *Plant Pathology*, 68, 566-575. <https://doi.org/10.1111/ppa.12977>
- Pérez, W., & Forbes, G. (2008). *El Tizón Tardío de la Papa. Manual Técnico*, Primera edición. <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/08/004271.pdf>
- Plich, J., Tatarowska, B., Milczarek, D., Zimnoch-Guzowska, E., & Flis, B. (2016). Relationships between race-specific and race-non-specific resistance to potato late blight and length of potato vegetation period in various sources of resistance. *Field Crops Research*, 196, 311-324. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.04.033>
- Rivadeneira, J., Andrade-Bolaños, H., Cachipuendo-Alvear, W., Gualoto-Ramírez, M., & Cuesta-Subia, X. (2020). Respuesta de UCE Premium y UCE Allipacha al ataque de *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani* y *Pectobacterium* sp. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 24(1), 13-20. <https://doi.org/10.37066/ralap.v24i1.387>
- Román, M. L., Rivera, C., Orbegozo, J., Serna, F., Gamboa, S., Pérez, W., Suarez, V., Forbes, G., Kreuzer, J., & Ghislain, M. (2015). Resistencia a *Phytophthora infestans* linaje clonal EC-1 en *Solanum tuberosum* mediante la introducción del gen RB. *Revista Peruana de Biología*, 22(1), 63-70. <https://doi.org/10.15381/rpb.v22i1.11122>
- Rubio, O., Cadena, M., & Flores, R. (2016). Comparación de la resistencia horizontal y vertical contra el tizón tardío de la papa en Toluca. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(4), 755-766. <https://www.redalyc.org/pdf/2631/263146721003.pdf>
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9, 671-675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Shapiro, S. S., & Francia, R. S. (1972). An approximate analysis of variance test for normality. *Journal of the American Statistical Association*, 67(337), 215-216. <https://doi.org/10.1080/01621459.1972.10481232>
- Subhani, M. N. (2016). *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary (Peronosporales: Pythiaceae): A review of life history, evolutionary status of pathogen, host range, mating types, symptomology, disease cycle, means of dispersal, extent of losses, and management. *Journal of Global Agriculture and Ecology*, 5(2), 108-126. <https://www.ikppress.org/index.php/JOGAE/article/view/937>
- Sun, K., Wolters, A. M. A., Vossen, J. H., Rauwet, M. E., Loonen, A. E. H., Jacobsen, E., Visser, R. G. F., & Bai, Y. (2016). Silencing of six susceptibility genes results in potato late blight resistance. *Transgenic Research*, 25, 731-742. <https://doi.org/10.1007/s11248-016-9964-2>
- Vleeshouwers, V., Van Dooijeweert, W., Govers, F., Kamoun, S., & Colon, L. (2000). The hypersensitive response is associated with host and non host resistance to *Phytophthora infestans*. *Planta*, 210, 853-864. <https://doi.org/10.1007/s004250050690>
- Vleeshouwers, V. G. A., Van Dooijeweert, W., Keizer, L. C. P., Sijpkens, L., Govers, F., & Colon, L. T. (1999). A laboratory assay for *Phytophthora infestans* resistance in various *Solanum* species reflects the field situation. *European Journal of Plant Pathology*, 105, 241-250. <https://doi.org/10.1023/A:1008710700363>
- Visker, M. H. P. W., Keizer, L. C. P., Budding, D. J., Van Loon, L. C., Colon, L. T., & Struik, P. C. (2003). Leaf position prevails over plant age and leaf age in reflecting resistance to late blight in potato. *Phytopathology*, 93(6), 666-674. <https://doi.org/10.1094/PHTO.2003.93.6.666>
- Whisson, S. C., Boevink, P. C., Wang, S., & Birch, P. R. (2016). The cell biology of late blight disease. *Current Opinion in Microbiology*, 34, 127-135. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.09.002>

- Yang, X., Tyler, B. M., & Hong, C. (2017). An expanded phylogeny for the genus *Phytophthora*. *IMA Fungus*, 8, 355-384. <https://doi.org/10.5598/imafungus.2017.08.02.09>
- Yitagesu, T. D. (2019). Integrated potato (*Solanum tuberosum* L.) late blight (*Phytophthora Infestans*) disease management in Ethiopia. *American Journal of BioScience*, 7(6) 123-130. <https://doi.org/10.11648/j.ajbio.20190706.16>
- Zhang, S., Zheng, X., Reiter, R. J., Feng, S., Wang, Y., Liu, S., Jin, L., Li, Z., Datla, R., Ren, M. (2017). Melatonin attenuates potato late blight by disrupting cell growth, stress tolerance, fungicide susceptibility and homeostasis of gene expression in *Phytophthora infestans*. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1993. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01993>

