

RESISTENCIA AL TIZÓN TARDÍO (*Phytophthora infestans*) EN CLONES PROMISORIOS DE PAPA EN COSTA RICA^{1/}

Miguel Barquero, Luis Gómez*, Arturo Brenes^{2/*}

Palabras clave: *Solanum tuberosum*, Resistencia, *Phytophthora infestans*, especies silvestres, *S. bulbocastanum*, *S. circaefolium*, *S. okadae*, *S. laxissimum*, *S. berthaultii*, *S. pinnatisectum*, *S. commersonii*, tizón tardío.

Keywords: *Solanum tuberosum*, Resistance, *Phytophthora infestans*, wild species, *S. bulbocastanum*, *S. circaefolium*, *S. okadae*, *S. laxissimum*, *S. berthaultii*, *S. pinnatisectum*, *S. commersonii*, late blight.

Recibido: 30/09/05

Aceptado: 13/03/06

RESUMEN

Se determinó la resistencia al tizón tardío presente en 83 genotipos de papa, provenientes de diferentes cruces y fusión de protoplastos de líneas de mejoramiento con las especies silvestres *Solanum bulbocastanum*, *S. circaefolium*, *S. okadae*, *S. laxissimum*, *S. berthaultii*, *S. pinnatisectum* y *S. commersonii*. Los materiales fueron evaluados en el campo, y en el laboratorio se realizó pruebas de folíolos separados, utilizando como inóculo una raza compleja (1-11) de *P. infestans*. Los genotipos provenientes de las hibridaciones somáticas o cruces con las especies silvestres *S. bulbocastanum*, *S. circaefolium* y *S. okadae* fueron los que presentaron los valores más bajos del área bajo la curva de desarrollo de la enfermedad: 60, 80 y 79, respectivamente. Las variedades Alpha, Waych'a, Pimpernell y Granola, utilizadas como testigos, presentaron los valores más altos del área bajo la curva 477, 474, 466 y 427, respectivamente.

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) se ubica entre los 10 cultivos más importantes en los países en desarrollo (Scott *et al.* 2000) y el cuarto

ABSTRACT

Resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in promising potato clones in Costa Rica. Resistance to late blight was determined in 83 potato clones arising from different crosses and protoplast fusion between breeding lines and the wild species *Solanum bulbocastanum*, *S. circaefolium*, *S. okadae*, *S. laxissimum*, *S. berthaultii*, *S. pinnatisectum*, and *S. commersonii*. Resistance to late blight was evaluated in the field, as well as under laboratory conditions, using detached leaflets and a complex race (1-11) of *P. infestans* as inoculum. The clones arising from crosses or somatic hybridization with the wild species *S. bulbocastanum*, *S. circaefolium* and *S. okadae* displayed the lowest values of the area under disease progress curve (AUDPC): 60, 80 and 79, respectively. The standard varieties Alpha, Waych'a, Pimpernell and Granola, used as controls, showed the highest values of the area under the curve 477, 474, 466 and, 427, respectively.

alimento más importante del mundo, superado únicamente por el arroz, la avena y el maíz en términos de producción total de alimento. Por sus excelentes cualidades nutritivas y por las muchas formas en que se puede preparar, ocupa el tercer

1/ Este trabajo es parte de la tesis de M.Sc. del primer autor. Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales. Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica.

2/ Autor para correspondencia. Correo electrónico: jabrenes@cariari.ucr.ac.cr

* Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

lugar en la dieta de los costarricenses en cuanto a consumo por persona por año (16,5-21,0 kg) (Jiménez *et al.* 1998). En la escala de rendimiento, Costa Rica ocupa el tercer lugar en Latinoamérica con 23 t ha⁻¹, en un área de siembra aproximada a las 3000 ha (Scott *et al.* 2000).

A pesar de la importancia alimentaria y socio-económica de la papa, en Costa Rica no se tiene estimaciones de las pérdidas debidas al tizón tardío (*Phytophthora infestans*). No obstante, si las condiciones climáticas son favorables para el desarrollo de la enfermedad, y las variedades empleadas son susceptibles, las pérdidas pueden alcanzar el 100% si no se realiza ningún tipo de protección.

Al ser el tizón tardío el factor limitante más importante en la producción de papa, se hace necesaria la investigación en el campo del manejo integrado de la enfermedad, utilizando combate genético, químico y cultural en la búsqueda de una integración de estrategias que minimicen sus daños. La búsqueda de la resistencia genética al tizón tardío, se ha intensificado ya que es un método práctico y económico para combatir la enfermedad. Inicialmente, la búsqueda enfatizó en la resistencia específica (genes mayores o resistencia vertical), con la cual se obtuvo buenos resultados. Sin embargo, las variedades de papa liberadas con este tipo de resistencia, resultaron susceptibles al ataque de *P. infestans* luego de algunos años. Actualmente, se hace énfasis en la resistencia no específica (genes menores o resistencia horizontal), por ser considerada como una opción de mayor durabilidad contra las diversas variantes o razas de este patógeno. El desarrollo, en las últimas décadas, de tecnologías como la fusión de protoplastos, ha permitido incorporar genes de resistencia más rápidamente que con los métodos convencionales de mejoramiento genético. Empleando esta técnica, se ha logrado introducir resistencia en variedades de papa (*S. tuberosum*) utilizando especies silvestres como, *S. pinnatisectum*, *S. circaeifolium*, *S. berthaultii*, *S. commersonii*, *S. laxissimum*, *S. bulbocastanum* y otras (Schilde-Rentschler *et al.* 1988, Serraf *et al.* 1991, Mattheij y Puite 1992,

Austin *et al.* 1993, Cardi *et al.* 1993, Colon 1994, Darsow *et al.* 1994, Menke *et al.* 1996, Thieme *et al.* 1997, Oberwalder *et al.* 2000, Brenes 2000, Barone *et al.* 2002), superando las barreas pre y poscigóticas presentes en la hibridación sexual entre diferentes especies de *Solanum*.

El potencial de recombinación sexual y la aparición de razas nuevas y más agresivas de *P. infestans* ha orientado la investigación en papa hacia la búsqueda de nuevas fuentes de resistencia en las especies silvestres de *Solanum*. La gran variabilidad genética de las especies silvestres de papa ha sido bien documentada, hay más de 228 especies (Harris 1978, Colon y Budding 1988). Algunas de las especies silvestres más utilizadas recientemente son: *S. commersonii* (cmm, 2n=2x=24) que procede de América del Sur y que se caracteriza por su tolerancia al frío y su resistencia a enfermedades bacteriales provocadas por *Ralstonia solanacearum* y *Erwinia caratovora* (Laferriere *et al.* 1999, Barone *et al.* 2001). Otra fuente es *S. bulbocastanum* (blb, 2n=2x=24) originaria de México e importante por presentar una alta resistencia al tizón tardío (Helgeson *et al.* 1998). *S. pinnatisectum* es también una especie silvestre Mexicana que muestra resistencia a *P. infestans* y *Erwinia caratovora* en el campo (Menke *et al.* 1996). *S. berthaultii* (ber, 2n=2x=24) originaria del sur de Bolivia, sobresale por los exudados de sus tricomas en tallos y hojas que le proporcionan resistencia a áfidos, además de mostrar alta resistencia a *P. infestans* (Ross 1986, Ewing *et al.* 2000). *S. circaeifolium* (crc, 2n=2x=24) originaria de América del Sur es utilizada en programas de mejoramiento por su alta resistencia al tizón tardío (Zlesak *et al.* 2004). *S. laxissimum* (lxs, 2n=2x=24) originaria de Bolivia y Perú con una alta resistencia a *P. infestans* (Brenes 2000).

El propósito del presente trabajo fue evaluar la resistencia de 83 clones de *Solanum*, provenientes de hibridaciones somáticas, cruces o retrocruces involucrando las especies silvestres *S. bulbocastanum*, *S. circaeifolium*, *S. okadae*, *S. laxissimum*, *S. berthaultii*, *S. pinnatisectum* y *S. commersonii* bajo las condiciones agroclimáticas

de Costa Rica, a las razas de *P. infestans* existentes en la zona norte de Cartago y en las faldas del volcán Poás, Alajuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizó 83 genotipos del programa de mejoramiento en papa de la Universidad de Tuebingen, Alemania (Cuadro 1). Se utilizó las variedades Monserrate, Alpha, Waych'a, Pimpennell, Floresta y Granola, como controles para las evaluaciones en el campo. Los genotipos se multiplicaron *in vitro* en el Laboratorio de Biotecnología de Plantas del Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica, utilizando el medio de cultivo de Murashige y Skoog (MS)

(1962), suplementado con 2 mg l⁻¹ de pantotenato de calcio y 8 g l⁻¹ de agar. Las plántulas crecieron en un fotoperíodo de 12 h y temperatura 23±2°C. Después de 3 semanas, las vitroplantas fueron trasladadas al invernadero en la subestación Experimental de Fraijanes, situada a 2000 msnm. Las plántulas fueron sembradas en potes plásticos de 1,5 litros con una mezcla esterilizada de fibra de coco molida y suelo en proporción 2:1. La temperatura del invernadero fue de 15-22°C y 12 h de luz natural. Las plantas fueron fertilizadas con 2,0 g de la fórmula 10-30-10, diluidos en 1 litro de agua y aplicado al suelo 15 días después de la siembra. El sistema de riego fue manual y se realizó 3 veces por semana. Una vez que las plantas alcanzaron la madurez fisiológica, los tubérculos fueron cosechados y almacenados en un lugar fresco y ventilado para ser sembrados luego de su brotación.

Cuadro 1. Genotipos utilizados y su genealogía

Código de genotipo	Tipo de cruce	Madre	Padre	Nivel de ploidía
crc3-(4,5,36,45,72,80,84)	CR	tbr (Irmgard)	tbr x tbr x (tbr+crc)	TE
crc+0	SH	tbr	<i>S. circaefolium</i>	TE
crc1-4	CR	tbr	tbr x (tbr + crc)	TE
crc2-P(2,8,9,13)	CR	tbr (Pamir)	tbr x (tbr + crc)	TE
oka+(2,3,10)	SH	tbr	<i>S. okade</i>	TE
blb+(4,16,22)	SH	tbr	<i>S. bulbocastanum</i>	TE
pnt79adg (3,8)	CR	tbr+S. <i>pinnatisectum</i>	andígena	TE
pnt81x82 2	CR	tbr+S. <i>pinnatisectum</i>	82.704.6 (CIP)	TE
Hua+comxpac (2,3,4,5,7,8,9)	CR	Huayro+S. <i>commersonii</i>	Huaycha Pacena	TE
Bblb	SH	tbr	<i>S. bulbocastanum</i>	TE
BBblb (2,3,8)	CR	tbr	tbr+S. <i>bulbocastanum</i>	TE
UBblb (3,4,6,9,11,13,14,15,16,17,18,19)	CR	tbr	tbr+S. <i>bulbocastanum</i>	TE
14okagran (1,2,3,4,6,7,8,10,11,13,14,17,19,20)	CR	tbr+S. <i>okade</i>	tbr (Granola)	TE
B1xBb20-(2,5)	CR	tbrxS. <i>berthaultii</i> -20	tbr	TE
(ber+B15) x Pamir-(1,2,4,5,6,7,8,9,14,15)	CR	tbr+S. <i>berthaultii</i>	tbr (Pamir)	TE
Lxs+B1-(1,2,3,6,8,9,10,11,12,16,17)	SH	tbr	<i>S. laxissimum</i>	TE

CR: Cruce sexual

SH: Híbrido somático

TE: Tetraploide

tbr = *Solanum tuberosum*

Evaluación de la resistencia a tizón tardío en condiciones de campo

Ubicación

El ensayo de campo se sembró en 2 localidades: la Estación Experimental Carlos Durán, del Ministerio del Agricultura y Ganadería, en Tierra Blanca de Cartago, situada a 2100 msnm, con una temperatura promedio de 15,5°C y humedad relativa de 80% y en la Sub-estación Experimental de la Universidad de Costa Rica en Fraijanes de Alajuela, situada a 2000 msnm con una temperatura promedio de 15°C y humedad relativa de 90%.

El experimento se realizó en el año 2000 y se repitió en el 2001.

Siembra

Los 83 materiales fueron distribuidos en el campo en surcos de 3 m, con plantas de la variedad Granola cada 2 surcos entre las hileras de los genotipos, como una fuente de inóculo en el área experimental. Se utilizó un diseño irrestricto al azar, donde la parcela experimental estaba constituida por 10 plantas por genotipo, sembradas a 30 cm entre plantas y 70 cm entre surcos. La unidad

experimental estuvo formada por cada una de las plantas. Cuando el 80% de las plantas había emergido, se realizó una aplicación del fungicida clorotaloni[®] en una dosis de 2,5 g l⁻¹ del producto comercial. Esto con el fin de proteger las plantas emergidas del ataque de *P. infestans*, y en espera de uniformar el tamaño de las mismas. La fertilización se realizó al momento de la siembra y 30 días después de la siembra, aplicando 207-346-280 kg ha⁻¹ de N, P₂O₅ y K₂O, respectivamente. Para el combate del hongo *Rhizoctonia solani*, gusanos cortadores y *Phyllophaga* spp, se aplicó al suelo PCNB[®] y mocap[®], respectivamente, al momento de la siembra. Los ensayos se cosecharon en el mes de noviembre de los años 2000 y 2001.

Evaluación y análisis

La reacción de los genotipos, se evaluó siguiendo la metodología descrita por Henfling (1982), cuya escala se detalla en el cuadro 2. Con el fin de comparar el comportamiento de cada material se calculó el área bajo la curva de desarrollo de la enfermedad (ABCDE o AUPDC por sus siglas en inglés) (Jeger *et al.* 2001). Las evaluaciones se iniciaron 3 semanas después de la siembra y fueron realizadas por una misma persona, una vez cada 7 días durante 11 semanas.

Cuadro 2. Escala de severidad de tizón tardío de la papa.

Grado	Porcentaje tejido afectado	Síntomas
1	0	No se observa tizón
2	0 - 5	Máximo 10 lesiones / planta.
3	5 - 15	Plantas sanas, área foliar afectada (20 foliolos).
4	15 - 35	Mayoría plantas afectadas, 25% follaje destruido (fd).
5	45 - 65	Parcela se ve verde, hojas inferiores muertas, 50% fd.
6	65 - 85	Parcela se ve verde, con manchas pardas, 75% fd.
7	85 - 95	Solo hojas superiores están verdes, tallos con lesiones.
8	95 - 100	Parcela se ve parda, mayoría tallos afectados o muertos.
9	100	Tallos y hojas muertos.

Los 83 genotipos evaluados fueron distribuidos en 13 grupos, considerando para esto la especie silvestre involucrada en el genotipo, con el fin de determinar el grado de resistencia conferida a la población de *P. infestans* presente en Costa Rica. Con los datos tomados semanalmente se calculó el área bajo la curva de desarrollo de la enfermedad (ABCDE) en todos los materiales en estudio y posteriormente fueron sujetos de un análisis de sus varianzas, usando un modelo lineal general del paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System). Para la interpretación de los resultados los componentes de la varianza fueron separados por año, localidad y la interacción entre ambos.

Evaluación de la resistencia utilizando foliolos separados

La resistencia de 76 genotipos se evaluó, en condiciones de laboratorio, inoculando una raza compleja de *P. infestans* que contiene 11 factores de virulencia, en los foliolos separados de los genotipos. Tanto en las evaluaciones de campo como de laboratorio se incluyó las

variedades Monserrate y Pimpernell (alta resistencia), y Alpha, Granola y Waych´a (baja resistencia) como testigos. La var. Floresta, que es la que más se siembra en Costa Rica, solamente se incluyó en las pruebas de campo.

De plantas de 6 a 8 semanas de edad se tomó foliolos de la 5ª y 6ª hoja subterminal completamente desarrollados. Posteriormente, fueron colocados en cajas plásticas transparentes de 20×20×6,5 cm, en posición abaxial y sobre un papel filtro o toalla de papel estéril colocado sobre un soporte de cedazo metálico. A cada caja se le agregó previamente 100 ml de agua estéril. Cada foliolo fue inoculado con 25 µl de suspensión de esporangios, a una concentración de 40000 esporangios ml⁻¹. Las cajas con los foliolos inoculados se colocaron en una cámara a 18±1°C y con un fotoperíodo de 16 h luz. La prueba se hizo por duplicado y para cada genotipo se utilizó 10 foliolos.

El grado de resistencia de los genotipos se determinó calculando el índice de la enfermedad descrito por Brenes (2000), Jeger *et al.* (2001) y Pérez *et al.* (2001), el cual considera el grado de esporulación y el porcentaje de área foliar necrosada en el foliolo (Cuadro 3).

Cuadro 3. Criterios utilizados para evaluar el porcentaje de área necrosada y el grado de esporulación en foliolos desprendidos e inoculados con *P. infestans*.

Área necrosada		Grado de esporulación	
Nota	Criterio	Nota	Criterio
1	Sin síntomas	0	Sin esporulación
2	Puntos necróticos en el lugar de aplicación de la gota de inóculo	1	Algunos esporangios en el área necrosada
3	Puntos necróticos de aprox. 2 mm	2	50% del área necrosada con esporangios
4	Aprox. 1 cm ² del área del foliolo necrosada	3	100% del área necrosada con esporangios
5	aproximadamente 50% del área del foliolo necrosada		
6	51-65% del área del foliolo necrosada		
7	66-75% del área del foliolo necrosada		
8	76-85% del área del foliolo necrosada		
9	> 85% del área del foliolo necrosada		

Cada foliolo recibió un valor de índice de enfermedad correspondiente al producto del área necrosada y el grado de esporulación. El nivel de resistencia es alto con un índice de enfermedad entre 1-9, medianamente resistente o medianamente susceptible entre 10-18 y altamente susceptible entre 19-27.

RESULTADOS

Evaluación de la resistencia al tizón tardío bajo condiciones de campo

De acuerdo con el análisis estadístico (Cuadro 4), existen diferencias altamente significativas entre grupos de genotipos (grupo), localidad y la interacción (genotipo x localidad). El análisis indica además que también hubo diferencias significativas en la variable años en cuanto al desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, no se observó diferencias estadísticas cuando se interpretó la interacción genotipo x año, indicando que la enfermedad desarrollada en los diferentes genotipos fue similar durante los periodos evaluados, bajo la influencia de las condiciones ambientales de una misma localidad.

Los datos del ABCDE en cada uno de los 13 grupos de genotipos se observa en el cuadro 5. Los genotipos cuyo origen es el cruce sexual entre un cultivar (tbr) con un genotipo que tiene herencia de la especie silvestre *S. bulbocastanum* sobresalen por presentar una menor severidad de la enfermedad, separándose estadísticamente del resto de los grupos que tienen como fuente de resistencia la herencia de las especies silvestres *S. commersonii*, *S. berthaulti*, *S. okadae* y *S. pinnatisectum*. Por otra parte, los genotipos obtenidos por fusión de protoplastos cuyo origen es la fusión de las especies silvestres: *S. circaeifolium*, *S. okadae*, *S. bulbocastanum* y *S. laxissimum* con un cultivar (tbr) no difieren estadísticamente entre sí, salvo la fusión que contiene la especie *S. laxissimum*. Los genotipos producto de la fusión de *S. circaeifolium* con un cultivar (tbr) son los más resistentes y los de *S. laxissimum* con (tbr) los más susceptibles al tizón tardío. Los genotipos de los diferentes retrocruces de *S. circaeifolium* con las variedades Irmgard y Parir, que tienen una resistencia de media a alta a *P. infestans*, son similares estadísticamente entre ellos en cuanto al desarrollo de la enfermedad. En general los promedios del ABCDE en los 13 grupos de genotipos refleja que el mayor nivel de resistencia se presenta en los genotipos con genes

Cuadro 4. Análisis de varianza del área bajo la curva de desarrollo de la enfermedad (ABCDE) de 13 grupos de genotipos evaluados en 2 localidades de Costa Rica durante el 2000 y 2001.

Variables	gl	Suma Cuadrados	Cuadrado Medio	Pr>F
Genotipos (Grupos)	12	4317418,166	359784,847	0,0001 **
Años	1	59397,567	59397,567	0,0343
Localidad	1	214850,095	214850,095	0,0001 **
Años x Localidad	1	16250,201	16250,201	0,2666
Genotipos x Localidad	12	524163,606	43680,300	0,0002 **
Genotipos x Años	12	189769,942	15814,162	0,2789
Error	248	3251059,879	13109,112	
Total	287	9673267,111		

** : $p \leq 0,05$

Cuadro 5. Comparación de medias del área bajo la curva de desarrollo de la enfermedad (ABCDE) de genotipos de papa evaluados en 2 localidades de Costa Rica.

Especie silvestre en el híbrido somático	Cruce	ABCDE			
		Tierra Blanca	Fraijanes	Promedio	
<i>S. bulbocastanum</i>		67	92	80	A ^{1/}
<i>S. bulbocastanum</i>		88	74	81	A
<i>S. berthaultii</i>	(CR) tbr	189	387	288	B
<i>S. okadae</i>		225	382	304	B
<i>S. commersonii</i>		242	398	320	BC
<i>S. pinnatisectum</i>		257	459	358	BC
<i>S. circaeifolium</i>		56	63	60	A
<i>S. okadae</i>	(HS) tbr	105	53	79	A
<i>S. bulbocastanum</i>		56	167	112	A
<i>S. laxissimum</i>		293	530	410	C
	crc1	175	67	121	A
<i>S. circaeifolium</i>	crc2	85	175	130	A
	crc3	83	206	145	A

HS: Híbrido somático, CR: Cruce sexual, tbr = *Solanum tuberosum*

^{1/} Medias con letras iguales, no difieren según prueba de Duncan ($p=0,05$)

de las especies silvestres: *S. circaeifolium*, *S. bulbocastanum* y *S. okadae*. Sin embargo, el nivel de resistencia dentro de los grupos de genotipos varía de acuerdo con la localidad.

El área bajo la curva de desarrollo de la enfermedad, promedio en cada uno de los 83 genotipos evaluados durante 2 años y según su ubicación geográfica, se presenta en la figura 1. En general se observó una mayor severidad del ataque del tizón tardío en la localidad de Fraijanes. Las diferencias en la reacción de los diferentes genotipos ante el ataque de *P. infestans* varió desde los altamente resistentes hasta los completamente susceptibles (Figura 2).

El promedio del ABCDE de las 6 variedades testigo de papa se muestra en el cuadro 6. Es posible observar diferencias entre variedades y localidad con respecto al comportamiento del

tizón tardío. Las diferencias separan las variedades en 2 grupos, donde Monserrate y Floresta son significativamente más tolerantes que las variedades Granola, Pimpernell, Waych'a y Alpha.

Evaluación de la resistencia al tizón tardío en folíolos desprendidos

Al inocular los folíolos de 76 genotipos con una raza compleja de *P. infestans* (1-11), se observó diferencias en el desarrollo de la enfermedad. Algunos genotipos se caracterizaron por presentar lesiones con un desarrollo de la lesión $\leq 50\%$ del área del folíolo, pero con un nivel de esporulación muy bajo ($<50\%$) o sin síntomas. A estos genotipos se les clasificó como de alta resistencia. Otros genotipos se caracterizaron por presentar un mayor desarrollo de la lesión en el folíolo ($65-75\%$) y $>50\%$ de esporulación, a estos se

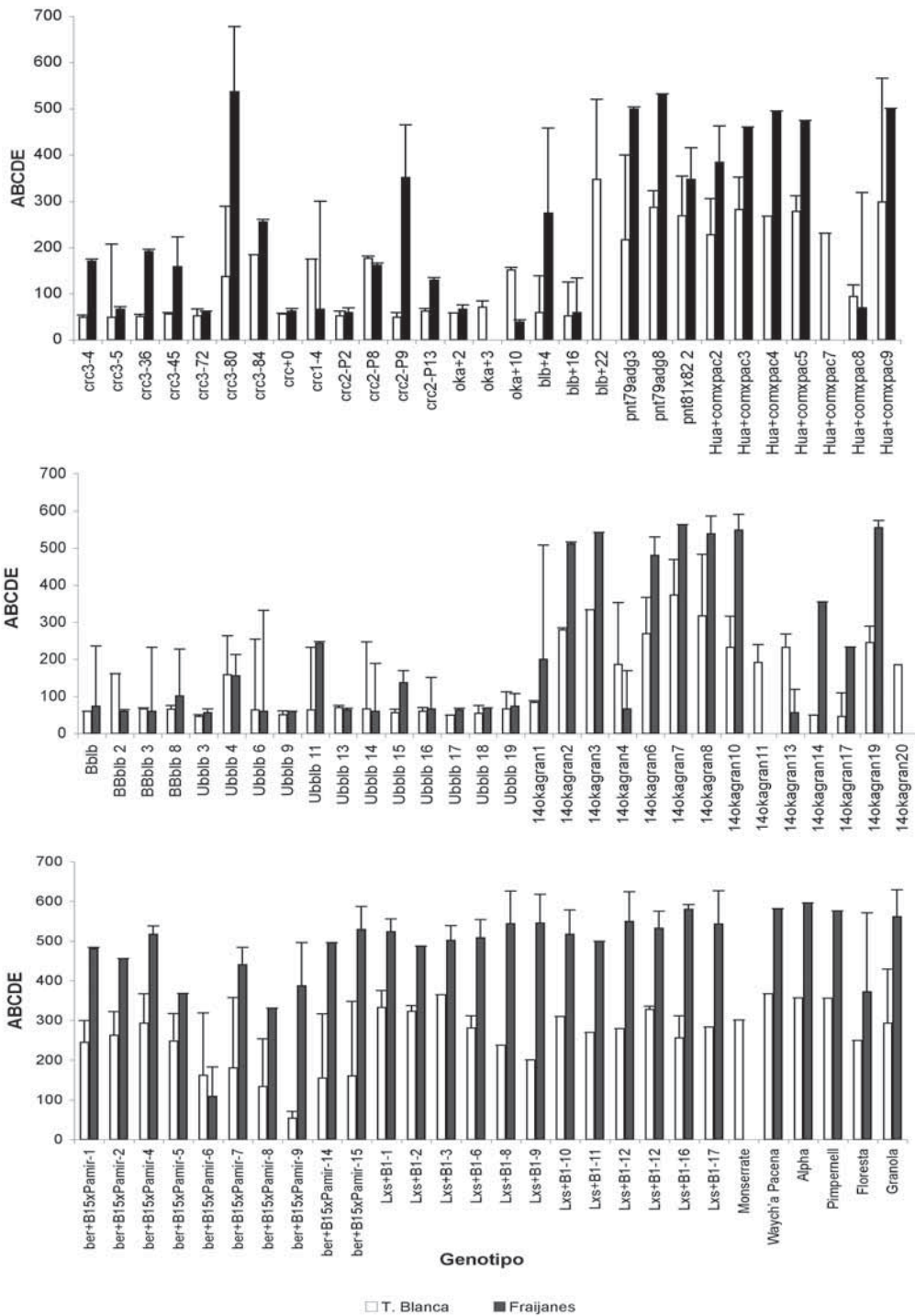


Fig. 1. Promedio del ABCDE de los genotipos de *Solanum* evaluados por su reacción al tizón tardío en las localidades de Tierra Blanca y Fraijanes durante los años 2000 y 2001.



Fig. 2. Reacción al tizón tardío observada en los genotipos evaluados. (A) Tallos infectados con tizón tardío en el clon Lxs+B1-11. (B) Puntos necróticos en el clon BBbbl 2 y (C) Granola severamente afectada y clon UBbbl 6 sin síntomas.

Cuadro 6. Promedios para el área bajo la curva de desarrollo de la enfermedad (ABCDE) de 5 variedades de papa evaluadas por su reacción al tizón tardío en las localidades de Tierra Blanca y Fraijanes durante el 2000 y el 2001.

Variedad	ABCDE			
	Tierra Blanca	Fraijanes	Promedio	
Monserrate	301	nd	301	A ^{1/}
Floresta	250	371	311	A
Granola	293	561	427	B
Pimpernell	356	576	466	B
Waych'a	367	581	474	B
Alpha	357	596	477	B

^{1/} Medias con letras iguales, no difieren según prueba de Duncan ($p=0,05$)

les clasificó como moderadamente resistentes. Los genotipos que presentaron un tamaño de la lesión >75% del área del foliolo y un 100% de esporulación, fueron clasificados como susceptibles. El índice de la enfermedad (IE), determinado en los foliolos separados de los genotipos evaluados, se presenta en el cuadro 7. Se consideró genotipos altamente resistentes los que presentaron índices entre 1-9, moderadamente resistentes aquellos con un índice entre 10-18 y susceptible los que presentaron un índice entre 19-27.

Las variedades empleadas como testigo mantuvieron un comportamiento muy cercano al esperado con base en el nivel de resistencia al tizón tardío. Las variedades Monserrate

y Pimpernel son catalogadas como de alta resistencia, en este experimento, la variedad Monserrate mostró un índice de resistencia moderado y la variedad Pimpernel un nivel susceptible. También las variedades Waych'a Pacena, Granola y Alpha, consideradas de baja resistencia al tizón tardío, mostraron un índice de enfermedad del tipo susceptible.

La frecuencia de la resistencia alta, moderada y baja en los genotipos evaluados, considerando la especie silvestre involucrada en el cruce o en el híbrido somático, se observa en el cuadro 8. De un total de 76 genotipos, 46 presentaron una alta resistencia, sobresaliendo en este grupo los genotipos que tienen como fuente

Cuadro 7. Índice de enfermedad (IE) en foliolos desprendidos de genotipos de *Solanum* inoculados con una raza compleja (1-11) de *P. infestans*.

Genotipo	IE	Genotipo	IE
crc3-(4, 5, 36, 72)	0 ± 0,0	14okagran3	12 ± 2,8
crc2-P(2, 13)	0 ± 0,0	pnt81x82 2	12 ± 2,8
oka+(2, 10)	0 ± 0,0	Hua+comxpac3	12 ± 2,8
Bblb	0 ± 0,0	14okagran6	13 ± 3,5
BBblb (2, 3, 8)	0 ± 0,0	Lxs+B1-(11, 17)	13 ± 3,5
UBblb (4, 6, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19)	0 ± 0,0	Hua+comxpac5	14 ± 5,7
14okagran (1, 4, 10, 13, 14)	0 ± 0,0	ber+B15xPamir-7	14 ± 5,7
ber+B15xPamir-(5, 6, 9)	0 ± 0,0	14okagran2	14 ± 0,0
14okagran17	2 ± 2,1	blb+16	15 ± 0,7
crc1-4	2 ± 2,8	Lxs+B1-9	15 ± 0,7
crc2-P8	2 ± 2,8	Alpha	18 ± 3,5
Lxs+B1-(2, 12)	4 ± 0,0	14okagran8	18 ± 0,0
UBblb 9	5 ± 1,4	blb+22	20 ± 0,0
Hua+comxpac2	5 ± 0,0	Lxs+B1-6	20 ± 0,0
ber+B15xPamir-15	5 ± 0,0	Waych'a Pacena	21 ± 1,4
pnt79adg3	6 ± 2,1	14okagran19	23 ± 6,4
crc3-80	6 ± 2,8	ber+B15xPamir-2	23 ± 2,1
crc+0	6 ± 2,8	Hua+comxpac9	24 ± 0,0
blb+4	6 ± 2,8	Pimpernell	24 ± 0,0
ber+B15xPamir-8	6 ± 1,4	ber+B15xPamir-14	26 ± 2,1
crc3-84	6 ± 2,8	pnt79adg8	26 ± 2,1
oka+3	6 ± 2,8	Hua+comxpac8	26 ± 2,1
14okagran11	6 ± 2,8	Granola	26 ± 1,4
Monserrate	8 ± 2,8	crc3-45	27 ± 0,0
Lxs+B1-16	9 ± 1,4	crc2-P9	27 ± 0,0
Hua+comxpac4	10 ± 2,8	ber+B15xPamir-(1, 4)	27 ± 0,0

Cuadro 8. Frecuencia de la resistencia observada en diferentes genotipos evaluados con una raza compleja de *P. infestans*.

Fuente de resistencia	Cruce	Nivel de resistencia		
		Alta	Moderada	Baja
<i>S. pinnatisectum</i>	(CR) tbr	1	1	1
<i>S. commersonii</i>		1	3	2
<i>S. bulbocastanum</i>		14	0	0
<i>S. okadae</i>		7	4	1
<i>S. berthaultii</i>		5	1	4
<i>S. circaeifolium</i>	(HS) tbr	1	0	0
<i>S. bulbocastanum</i>		1	1	1
<i>S. okadae</i>		3	0	0
<i>S. laxissimum</i>		3	7	2
	crc3 (CR) tbr	6	0	1
<i>S. circaeifolium</i>	crc2	3	0	1
	crc1	1	0	0
Total		46	17	13

HS: Híbrido somático
CR: Cruce sexual

de resistencia principal a *S. circaeifolium*, *S. bulbocastanum*, *S. berthaultii*, y *S. okadae*. Los genotipos con resistencia intermedia fueron 17, entre los cuales sobresalen los híbridos somáticos de *S. tuberosum* con *S. laxissimum* y los cruces de los genotipos con herencia de *S. okadae* y *S. commersonii*. Por último, en el grupo de los susceptibles sobresalen genotipos que presentan cruces con las especies *S. berthaultii* y *S. commersonii*. Los genotipos que comparten herencia de la especie silvestre *S. pinnatisectum* a través de cruzamiento sexual con *S. andigena* muestran un comportamiento heterogéneo, pues se observó diferentes niveles de resistencias a *P. infestans*.

Por último, al correlacionar los datos del ABCDE, obtenidos de las evaluaciones de campo tanto en Fraijanes como en Tierra Blanca, con los resultados del índice de la enfermedad (IE), obtenidos de las evaluaciones de hoja separada realizadas en el laboratorio, se obtuvo valores de correlación muy bajos. El valor de correlación r entre los datos de campo de Fraijanes con los de

laboratorio es de 0,56, mientras que con los datos de Tierra Blanca es de 0,47.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio, tanto en las evaluaciones de campo como en las pruebas de folíolos separados, sugieren que los genotipos derivados de las especies silvestres *S. bulbocastanum*, *S. circaeifolium* y *S. okadae* poseen un nivel alto de resistencia contra *P. infestans*, en comparación con las variedades testigo. Estudios similares desarrollados en países como Bolivia, Colombia y Ecuador, han determinado que los materiales más resistentes provienen de híbridos somáticos con estas mismas especies (Schilde-Rentschler 2003). Este nivel de resistencia podría definirse bajo el concepto de 2 categorías: un nivel de resistencia parcial alto o una resistencia completa.

Al analizar el área bajo la curva de desarrollo de la enfermedad, determinada en las evaluaciones realizadas en el campo, para el

grupo de genotipos caracterizados por compartir genes de las especies silvestres *S. circaeifolium* y *S. okadae*, se observa que existe un amplio ámbito de niveles de infección, que sugiere un tipo de resistencia incompleta no específica de un nivel alto. Colon (1994), menciona que un ámbito amplio en la expresión de la resistencia en diferentes accesiones de un genotipo, sugiere la presencia del efecto aditivo de genes menores (resistencia horizontal). Incluso, la disminución de la resistencia en los genotipos con genes de *S. circaeifolium*, luego de una serie de cruces o retrocruces, es causa de la dispersión de los genes menores inherentes a la resistencia contra *P. infestans* (Ross 1986). En el caso de los genotipos que comparten los genes de la especie *S. bulbocastanum*, podría suceder lo contrario. La uniformidad de la resistencia evaluada podría indicar una resistencia completa o vertical debida a la presencia de genes mayores.

Helgenson *et al.* (1998), demostraron la transferencia de la resistencia aportada por *S. bulbocastanum* en genotipos provenientes de la hibridación somática, entre la especie diploide *S. bulbocastanum* y la especie tetraploide *S. tuberosum* y retrocruces posteriores, afirmando que la resistencia no es gobernada por genes *R*. Posteriormente, Naess *et al.* (2000) confirmaron la segregación del factor de resistencia de tipo específico (*Rblc*) en el cromosoma 8, en los híbridos somáticos cuya fuente de resistencia fue conferida por la especie silvestre *S. bulbocastanum*. Esto sugiere que el alto nivel de resistencia obtenido en los genotipos que comparten herencia de la especie silvestre *S. bulbocastanum*, evaluados en este estudio, podría ser también el efecto de una resistencia gobernada por genes mayores.

En el caso de los genotipos que comparten herencia de las especies silvestres *S. berthaultii* y *S. commersonii*, los resultados de laboratorio y campo revelan un ámbito amplio en la expresión de la resistencia al tizón tardío; desde genotipos completamente susceptibles hasta genotipos totalmente resistentes (Cuadro 8). Otro punto interesante en este grupo, es la variación en la expresión de la resistencia de acuerdo a la

localidad, observándose un menor daño por la enfermedad en Tierra Blanca que en Fraijanes (Figura 1). Este comportamiento coincide con lo reportado por Schilde-Rentschler (2003), donde estos mismos materiales presentan niveles bajos de daño por el tizón tardío en unas localidades, pero no así en otras. Esto sugiere la presencia de una resistencia influenciada por el efecto de genes mayores, cuya expresión es dependiente de la variación en los genes de virulencia en la población de *P. infestans*, presente en las localidades donde se desarrolló este estudio.

Analizando los resultados obtenidos en la evaluación de foliolos separados (Cuadro 7), se aprecia que el grupo de genotipos provenientes del cruce de (*S. tuberosum* + *S. berthaultii*) x *S. tuberosum* presenta alta resistencia en el 50% de los genotipos del grupo, mientras que un 40% son genotipos susceptibles, en comparación con el grupo de genotipos con herencia de *S. commersonii*, donde el 50% de la resistencia fue de un nivel moderado y 33% fue susceptible. Estos resultados difieren de los presentados por Brenes (2000), quien determinó altos índices de resistencia en materiales que poseían genes de la especie *S. berthaultii*, tanto procedentes de híbridos somáticos como de cruces sexuales.

Resultados similares a los del presente trabajo obtuvieron Colon y Budding (1988), quienes indican que existen genes menores con efectos aditivos en la especie *S. berthaultii*. Sin embargo, Ewing *et al.* (1999) descubrieron un nuevo gen mayor (*Rber*), al evaluar la segregación de la resistencia en la población obtenida de retrocruces entre *S. tuberosum* + *S. berthaultii* x *S. tuberosum*, en el cromosoma 10, región que contiene otros genes asociados con la resistencia; confirmando lo planteado por Trognitz *et al.* (1997), quienes relacionaron la alta resistencia de esta especie con una reacción de tipo específica o genes mayores. En cuanto a la especie silvestre *S. commersonii*, los resultados de este estudio son similares a los reportados por Micheletto *et al.* (2000) y Pérez *et al.* (2001), ellos indican que la alta resistencia y la variabilidad expresada en la resistencia sugiere también la presencia

de genes mayores en *S. commersonii*, como lo afirman Micheletto *et al.* (1999). El comportamiento heterogéneo de la resistencia, observado en este estudio y por varios investigadores en otros países, da pie a pensar que la resistencia de los genotipos que poseen genes de las especies silvestres *S. berthaultii* y *S. commersonii*, se basa en la interacción tanto de genes mayores como de genes menores.

Las especies silvestres *S. laxissimum* y *S. pinnatisectum* han mostrado resistencia de campo (Menke *et al.* 1996, Trognitz 1998); sin embargo, no sobresalen en este estudio. Los genotipos que comparten genes de estas especies tuvieron un comportamiento muy variable en las pruebas de hoja separada. Desde completamente susceptibles hasta completamente resistentes, mientras que los datos de campo reflejan un comportamiento uniforme y una alta susceptibilidad al ataque de *P. infestans*, principalmente en los genotipos derivados de las fusiones de *S. laxissimum* con *S. tuberosum*. Estos resultados difieren de los encontrados por Brenes (2000) en genotipos provenientes de la fusión con la especie *S. laxissimum*, y de los reportados por Kuhl *et al.* (2001) en el estudio de la segregación de la resistencia en híbridos provenientes de la fusión de *S. pinnatisectum* y la especie susceptible *S. cardiophyllum*. Posiblemente, la presencia de una resistencia específica en los genotipos que comparten genes de *S. laxissimum* y *S. pinnatisectum* sea la responsable de las diferencias encontradas en otros trabajos, como lo confirma la influencia del gen *Rpi1*, en la resistencia de *S. pinnatisectum* (Kuhl *et al.* 2001).

Finalmente, los bajos valores de correlación obtenidos entre el ABCDE en el campo, con el índice de enfermedad (IE) de la prueba de hoja separada en el laboratorio, sugieren la importancia y necesidad de realizar las pruebas de campo. La imposibilidad de contar con un individuo que ofrezca todos los factores genéticos que determinan la virulencia del patógeno (Al-Kherb *et al.* 1995), además de la influencia que ejercen los factores ambientales y genéticos que determinan la resistencia en las plantas de papa (Malcolmson

y Black 1966) son posiblemente causas directas de la poca correlación.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue financiado por la Comisión Europea a través del proyecto INCO-DC: "Exploitation of the genetic biodiversity of wild relatives for breeding potatoes with sustainable resistance to late blight (*Phytophthora infestans*)".

LITERATURA CITADA

- AUSTIN S., POHLMAN J.D., BROWN C.R., MOJTAHEDI H., SANTO G.S., DOUCHES D.S., HELGENSON J.P. 1993. Interspecific somatic hybridization between *Solanum tuberosum* L. and *S. bulbocastanum* Dun. As a means of transferring nematode resistance. *Am. Potato J.* 70: 485-495.
- AL-KHERB S.M., FININSA C., SHATTOCK R.C., SHAW D.S. 1995. The inheritance of virulence of *Phytophthora infestans* to potato. *Plant Pathology* 44: 552-562.
- BRENES A. 2000. Introgression of late blight resistance from *Solanum* wild species into *S. tuberosum* breeding lines. Ph.D. Thesis Tübingen University. 199 p.
- BARONE A., LI J., SEBASTIANO A., CARDI T., FRUSCIANTE L. 2002. Evidence for tetrasomic inheritance in a tetraploid *Solanum commersonii* (+) *S. tuberosum* somatic hybrid through the use of molecular markers. *Theor. Appl. Genet.* 104:539-546.
- BARONE A., SEBASTIANO A., CARPUTO D., BELLA ROCA F. 2001. Molecular marker-assisted introgression of the wild *Solanum commersonii* genome into the cultivated *S. tuberosum* gene pool. *Theor. Appl. Genet.* 102:900-907.
- CARDI T., D'AMBROSIO F., CONSOLI D., PUITE K.J., RAMULU K.S. 1993. Production of somatic hybrids between frost-tolerant *Solanum commersonii* and *S. tuberosum*: characterization of hybrid plants. *Theor. Appl. Genet.* 87: 193-200.
- COLON L.T. 1994. Resistance to *Phytophthora infestans* in *Solanum tuberosum* and wild *Solanum* species. Thesis. Wageningen Agricultural University. Netherlands.

- COLON L.T., BUDDING D.J. 1988. Resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in the wild *Solanum* species. *Euphytica* 5: 77-86.
- EWING E., SIMKO I., SMART C., BONIERBALE M., MIZUBUTI E., MAY G., FRY W. 2000. Genetic mapping from field test of qualitative and quantitative resistance to *Phytophthora infestans* in a population derived from *Solanum tuberosum* and *Solanum berthaultii*. *Molecular Breeding* 6: 25-36.
- HARRIS P.M. 1978. Hybridization by somatic cell fusion. In: Handbook of plant cell culture. Fokk, L.C. and Constabel, F. (eds). LRC Press. Boca Raton. p. 169-203.
- HELGESON J.P., POHLMAN J.D., AISTIN S., HABERLACH G.T., WIELGUS S.M., RONIS D., ZAMBOLIM L., TOOLEY P., JAMES R.V., STEVENSON W.R. 1998. Somatic hybrids between *Solanum bulbocastanum* and potato: A new source of resistance of late blight. *Theor. Appl. Genet.* 96 (6-7): 738-742.
- HENFLING J. W. 1982. Field screening procedures to evaluate resistance to late blight. CIP Technology Evaluation Series No. 1982-5.
- JEGER M.J., VILJANEN-ROLLINSON S.L.H. 2001. The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 40: 102-132.
- JIMENEZ G.K., QUIROS A.J., RETANA A.S., VARGAS R.R., VILLALOBOS G.R., VILLALOBOS U.D. 1998. Análisis de los sistemas de comercialización de la papa en las zonas de mayor producción en Costa Rica. Tesis de grado, Facultad de Ciencias Económicas, Universidad de Costa Rica. p: 27-52.
- KUHL J., HANNEMAN Jr.R., HAVEY M. 2001. Characterization and mapping of Rpi1, a late blight resistance locus from diploid (IEBN) Mexican *Solanum pinnatisectum*. *Molecular Genetics and Genomics* 265: 997-985.
- LAFERRIERE L.T., HELGESON J. P., ALLEN C. 1999. Fertile *Solanum tuberosum* x *S. commersonii* somatic hybrids as sources of resistance to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Theor. Appl. Genet.* 98: 1272-1278.
- MALCOLMSON J.F., BLACK W. 1966. New *R* genes in *Solanum demissum* Lindl. and their complementary races of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Euphytica* 15: 199-203.
- MATTHEI W.N., PUITE K.J. 1992. Tetraploid potato hybrids through protoplast fusions and analysis of their performance in the field. *Theor. Appl. Genet.* 83: 807-812.
- MENKE U., SCHILDE-RENTSCHLER L., RUOSS B., ZANKE C., HEMLEBEN V., NINNEMANN H. 1996. Somatic hybrids between the cultivated potato *Solanum tuberosum* L. and the IEBN wild species *Solanum pinnatisectum* Dun.: morphological and molecular characterization. *Theor. Appl. Genet.* 92: 617-626.
- MICHELETTO S., BOLAND R., HUARTE M. 2000. Argentinian wild diploid *Solanum* species as sources of quantitative late blight resistance. *Theor. Appl. Genet.* 101: 902-906.
- MICHELETTO S., ANDREONI M., HUARTE M. 1999. Vertical resistance to late blight in wild potato species from Argentina. *Euphytica* 110: 133-138.
- MURASHIGE T., SKOOG F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- NAESS S.K., BRADEEN J.M., WIELGUS S.M., HABERLACH G.T., McGRATH J.M., HELGESON J.P. 2000. Resistance to late blight in *Solanum bulbocastanum* is mapped to chromosome 8. *Theor. Appl. Genet.* 101: 697-704.
- OBERWALDER B.L., SCHILDE-RENTSCHLER L., LÖFFELHARDT-RUOß B., NINNEMANN H. 2000. Differences between hybrids of *Solanum tuberosum* L. and *Solanum circaefolium* Bitt. obtained from symmetric and asymmetric fusion experiments. *Potato Research* 43: 71-82.
- PEREZ W., SALAS A., RAYMINDO R., HUAMAN Z., NELSO R., BONIERBALE M. 2001. Evaluation of wild potato species for resistance to late blight. Lima, Peru. CIP Program report 1999-2000. p. 49-62.
- SCOTT G.J., ROSEGRANT M.W., RINGLER C. 2000. Roots and tubers for the 21st century: Trends, projections, and policy options. International Food Policy Research Institute (IFPRI). p. 31.
- SERRAF I., SIHACHAKR D., DUCREUX G., BROWN S.C., ALLOT M., BARGHI N., ROSSIGNOL L. 1991. Interspecific somatic hybridization in potato by protoplast electrofusion. *Plant Science* 76: 115-126.
- SCHILDE-RENTSCHLER L. 2003. Focus on partners: The INCO-PAPA Project. *GILB* 20:1-2.
- SCHILDE-RENTSCHLER L., BOOS G., NINNEMANN H. 1998. Somatic hybridization of diploid potato

- lines, a tool in potato breeding. *In*: Puite, K.J.; Hunizing, H.J.; Kool, A.J.; Koorneef, M.; Krens, F.A. (eds). Progress in plant protoplast research. Kluwer. Boston, London. p. 195-196.
- ROSS H. 1986. Potato breeding: Problems and perspectives. *In*: Advances in plant breeding. 13: 1-132. Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg.
- THIEMER., DARSOW U., GAVRILENKOT., DOROKHOV D., TIEMANN H. 1997. Production of somatic hybrids between *S. tuberosum* L. and late blight resistant Mexican wild potato species. *Euphytica* 97: 189-200.
- TROGNITZ B., ESLAVA M., PORTAL L., RAMON P. 1997. Resistance to late blight from diverse wild source. Lima, Perú, Program Report 1995-1996. CIP. p. 127-131.
- TROGNITZ B. 1998. Inheritance of resistance in potato to lesion expansion and sporulation by *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology* 47:712-722.
- ZLESACK D.C., THILL CH.A. 2004. Foliar resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary (US-8) in 13 Mexican and South American *Solanum* species having EBNs of 1, 2 and 4 and implications for breeding. *American Journal of Potato Research* 81:421-426.

