

Respuesta de una población de *Solanum berthaultii* Hawkes frente a *Phytophthora infestans* y su relación con la densidad y tipo de tricomas

S. Capezio^{1*}, A. Tassara¹, M.C. Bedogni^{1,2}, M. Huarte²

Manuscrito recibido: 20/08/2015

Aceptado: 29/01/2016

Disponible en línea: Junio 2016

Resumen

Ciento siete genotipos de *Solanum berthaultii* (ber) provenientes del cruzamiento de los genotipos OKA 5880.22 y OKA 5632.11 del Banco de Germoplasma de la EEA Balcarce y los progenitores se evaluaron con el objetivo de determinar la variabilidad de la población frente a *P. infestans*, el tipo y la densidad de tricomas y la relación entre las variables. Se calculó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC) para cada genotipo. Se realizaron recuentos de tricomas en dos estadios fenológicos, cuando la planta tenía entre cuatro y cinco hojas desarrolladas y en madurez fisiológica, a los 90 días después de plantación. Se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el valor de AUDPC entre los genotipos evaluados. Se concluyó que hay variabilidad para la densidad y tipo de tricomas y para el comportamiento frente a tizón tardío, lo cual indica que existe variabilidad fenotípica para estos caracteres en esta población de *S. berthaultii*. No hay correlación entre densidad y tipo de tricomas y la incidencia al tizón tardío en *S. berthaultii*. Por ello existe un buen potencial para el uso de esta especie para mejoramiento por estas características.

Palabras clave adicionales: Papa, tizón tardío, tricomas A y B.

Response of a *Solanum berthaultii* Hawkes population to *Phytophthora infestans* and its relationship to trichome density and type

Summary

One hundred and seven genotypes of a cross between the *Solanum berthaultii* (ber) accessions OKA 5880.22 and OKA 5632.11 from the Germplasm Bank of EEA Balcarce and the two progenitors were evaluated for their reaction to late blight, trichome density and type and the relationship between both characters. The area under the disease progress curve (AUDPC) was calculated for each genotype. Trichome counts were performed in two phenological stages, when the plant had between four and five developed leaves and at physiological maturity, 90 days after planting. Significant differences ($p < 0.05$) were observed for AUDPC among genotypes. It was concluded that there is variability for trichome density and type, and for the reaction to late blight infection, which indicates existence of phenotypic variability in this *S. berthaultii* population. There is no correlation between trichomes and resistance to late blight. Thus, there exists a good potential for the use of this species in breeding for these characteristics.

Additional keywords: Potato, late blight, A and B trichomes.

* Autor para correspondencia. Correo electrónico: capezio.silvia@inta.gob.ar

¹ Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, CC 276, Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

² Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

Introducción

El cultivo de papa es afectado por *Phytophthora infestans*, causando la enfermedad llamada tizón tardío. Este oomycete es considerado el principal patógeno a nivel mundial. Si bien es una de las enfermedades más conocidas y ampliamente estudiada, continúa siendo uno de los principales factores bióticos limitantes de la producción. El control con agroquímicos es la herramienta más utilizada y más efectiva en cultivos comerciales. Ello provoca contaminación ambiental, riesgo en la salud de los operarios y consumidores, aumento de los costos de producción, y además favorece el desarrollo de resistencia por parte del patógeno. La resistencia genética es una respuesta económica a este problema debido a que no tiene los efectos negativos de los productos químicos ya mencionados. Pero para incorporarla se necesita disponer de fuentes de diversidad genética.

La especie *Solanum berthaultii* Hawkes (*ber*) (*S. tarijense*) se puede encontrar en Bolivia, donde se distribuye desde la región central hacia el sudeste penetrando hasta las provincias de Jujuy y Salta del norte argentino, en torno a unos 2000 y 3000 metros de altitud. Se encuentra en lugares de poca humedad, en suelos pobres pedregosos o arcillo-arenosos (Ochoa, 2001). Esta especie ha sido evaluada y presenta valiosos genes de resistencia a enfermedades, plagas y a condiciones de estrés abiótico (Hannemann y Bamberg, 1986; Hannemann 1989; Estrada 2000; Budin, 2002; Buso *et al.* 2003; Barquero *et al.*, 2005; Capezio *et al.*, 2008).

Dado que es posible la introgresión de genes de *S. berthaultii* en el genoma de la papa cultivada (*S. tuberosum* ssp. *tuberosum*) a partir de cruzamientos interespecíficos (Buso *et al.*; 2003), resulta de gran interés la búsqueda de caracteres de interés agronómico como resistencia a

P. infestans en ambas especies silvestres para ser incorporadas en ella.

Los tricomas son pelos glandulares que se encuentran en varias especies vegetales y en algunos casos las protegen frente a factores bióticos y abióticos adversos. Varias especies silvestres de papa poseen tricomas en las hojas y en los tallos. Sin embargo en *S. berthaultii* el estudio sobre tricomas y su segregación es escaso. Se ha encontrado que los tricomas de la papa son responsables de la resistencia a insectos pequeños como los áfidos (Pelletier y Duthiel, 2006). Los tricomas también están involucrados en la protección de las plantas ante factores de estrés abióticos como: daño por radiación ultravioleta, tolerancia a sequía, reducción de la carga de calor por radiación y el secuestro de toxinas (Roy *et al.*, 1999).

Uno de los principales objetivos de los programas de mejoramiento genético de papa es incorporar resistencia a factores bióticos y abióticos adversos. La determinación de la correlación entre la presencia de tricomas y la incidencia de tizón tardío en una población de *S. berthaultii* será de utilidad para la posterior detección de genes involucrados en ambos caracteres.

Los objetivos del trabajo fueron determinar la variabilidad de una población de *S. berthaultii* frente a *P. infestans* y determinar el tipo y la densidad de tricomas en la misma población y su relación con el comportamiento frente a *P. infestans*.

Materiales y métodos

Ciento siete genotipos de *Solanum berthaultii* (*ber*) provenientes del cruzamiento de las introducciones OKA 5880.22 y OKA 5632.11 del Banco de Germoplasma de la EEA Balcarce y los dos progenitores se plantaron en un lote en la Estación Experimental Agropecuaria de Balcarce, provincia de Buenos Aires (37° 45' de latitud Sur y 58° 18' de longitud Oeste, altitud 130 msnm)

durante la temporada 2011/12. Se siguió un diseño experimental en bloques completos aleatorizados, con tres repeticiones de cinco plantas cada uno distanciadas a 0,80 m entre surcos y 0,20 m entre plantas. Se plantó una variedad de papa susceptible a tizón tardío (Bintje) bordeando los surcos como diseminadora de la enfermedad. El ensayo se fertilizó a la plantación con 200 kg/ha de fosfato diamónico y no se aplicó fungicidas.

Las parcelas se inocularon con un aislamiento complejo de *P. infestans* con los factores de virulencia 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10 y 11, utilizando una mochila de aspersión manual. La concentración de ajustó a 5.3×10^5 esporangios ml^{-1} .

Se realizaron riegos complementarios, para asegurar niveles de humedad adecuados para el óptimo crecimiento del cultivo y para favorecer el desarrollo de la enfermedad.

Para evaluar el desarrollo de la enfermedad se midió semanalmente el porcentaje de infección en cada parcela, hasta que el testigo susceptible alcanzó el 100% de incidencia de la enfermedad. Se realizaron cuatro lecturas en cada genotipo y se calculó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC) de acuerdo a Shaner y Finney (1977).

Para la determinación del tipo y la densidad de tricomas, los mismos genotipos se plantaron en macetas individuales en un invernáculo. Las macetas fueron dispuestas en un diseño experimental aleatorizado con tres repeticiones, siendo cada planta una unidad experimental. Durante el experimento se efectuaron riegos periódicos y controles fitosanitarios. Se realizaron aplicaciones de

fungicida mancozeb (polvo mojable, 800 g/kg,) e insecticida imidacloprid (suspensión concentrada, 30,5%)

Se realizaron recuentos de tricomas en dos estadios fenológicos, cuando la planta tenía entre cuatro y cinco hojas desarrolladas y en madurez fisiológica, a los 90 días después de plantación. De cada planta se cortó la cuarta hoja desarrollada y se le extrajeron los folíolos laterales.. Se observó el envés de cada folíolo bajo una lupa binocular Olympus SZ 61, modelo SZ 2-ILST. Se contó el número de tricomas y se los clasificó en tipos A, B y no glandulares de acuerdo a Horgan *et al*, 2007. La medición se realizó en 1 mm^2 de tejido en la región central de la nervadura principal del folíolo.

Se realizaron análisis de varianza de medias, histograma de frecuencias y de correlación utilizando el programa SAS (Sas Institute Inc, 1990).

Resultados y discusión

Se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el valor de AUDPC entre los genotipos evaluados. Estos valores variaron entre 212 y 1870, presentando un promedio de 779. El testigo Bintje tuvo un valor de AUDPC de 2087. Los parentales Oka 5880.22 y Oka 5632.11 presentaron valores de AUDPC 212 y 856, respectivamente.

Setenta y un genotipos alcanzaron un porcentaje de infección mayor a 60 y 20 genotipos presentaron menos del 40 en la última lectura de evaluación. Se pudo observar una distribución de los valores de AUDPC desplazados hacia la derecha del gráfico, reflejando una mayor proporción de genotipos susceptibles en la progenie en estudio (Figura 1).

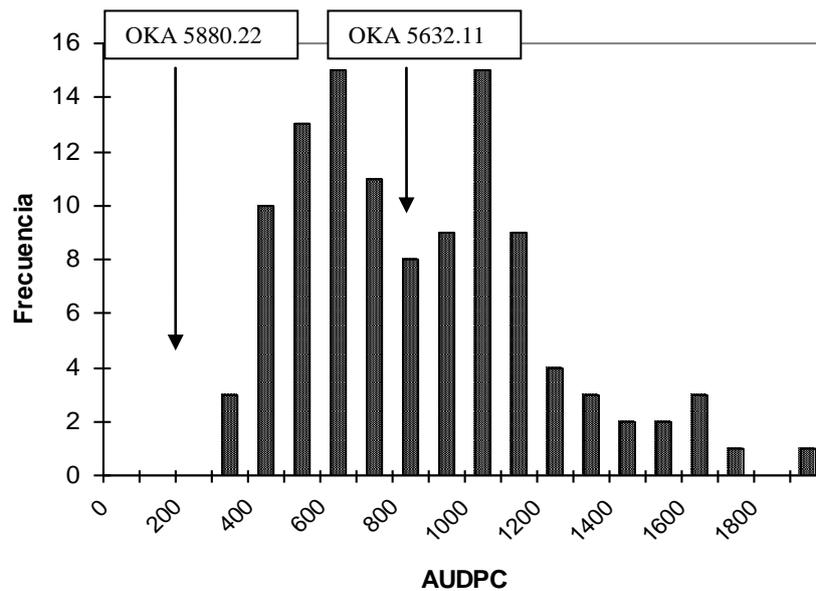


Figura 1. Distribución de frecuencias para el AUDPC en una progenie de *S. berthaultii* y sus progenitores. Balcarce 2010/11.

Estos resultados podrían reflejar la presencia de resistencia horizontal en la población de *S. berthaultii*. Colon (1994), menciona que un amplio rango de expresiones de la resistencia en los genotipo estudiados, puede darse por la presencia del efecto aditivo de genes menores (resistencia horizontal). Por otro lado, cuando la respuesta obtenida frente a *P. infestans* es uniforme en su distribución, podría indicar una resistencia completa o vertical debida a la presencia de genes mayores (genes R). De acuerdo con Rubio Covarrubias *et al.* (2002), los genes de resistencia horizontal presentan un

comportamiento similar tanto si están solos o combinados con genes R. Por el contrario, Landeo (1990), indica que los genes mayores para resistencia vertical, están ligados a los genes menores para resistencia horizontal, y Parlevliet (1983) considera que si una población varía para resistencia vertical y horizontal, estas tienen que ser diferenciadas para realizar una selección efectiva para resistencia horizontal.

Se halló variabilidad para el tipo y la densidad de tricomas A y B (Figuras 2 y 3).

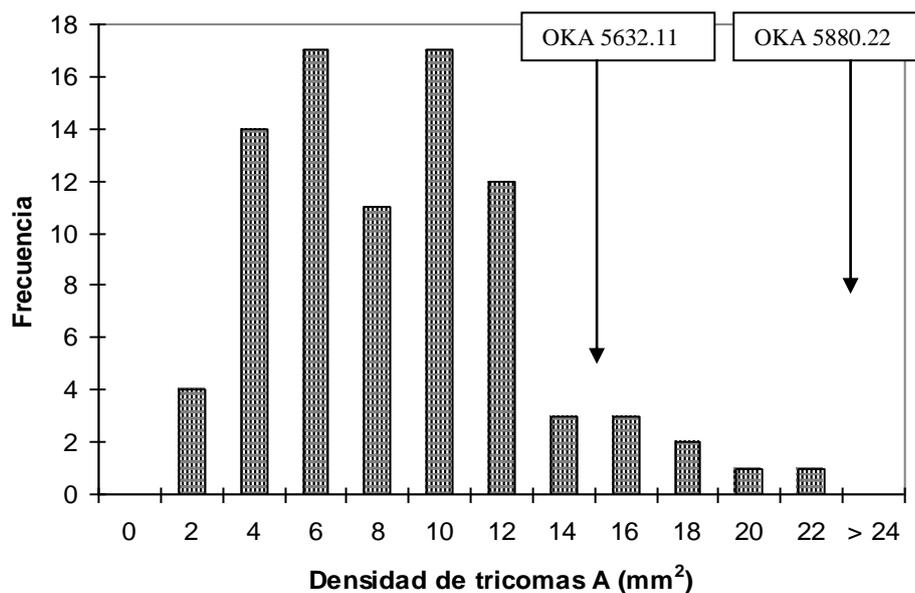


Figura 2. Distribución de frecuencias para tricomas tipo A en estadio 4-5 hojas en una progenie de *S. berthaultii* y sus progenitores. Balcarce 2010/11

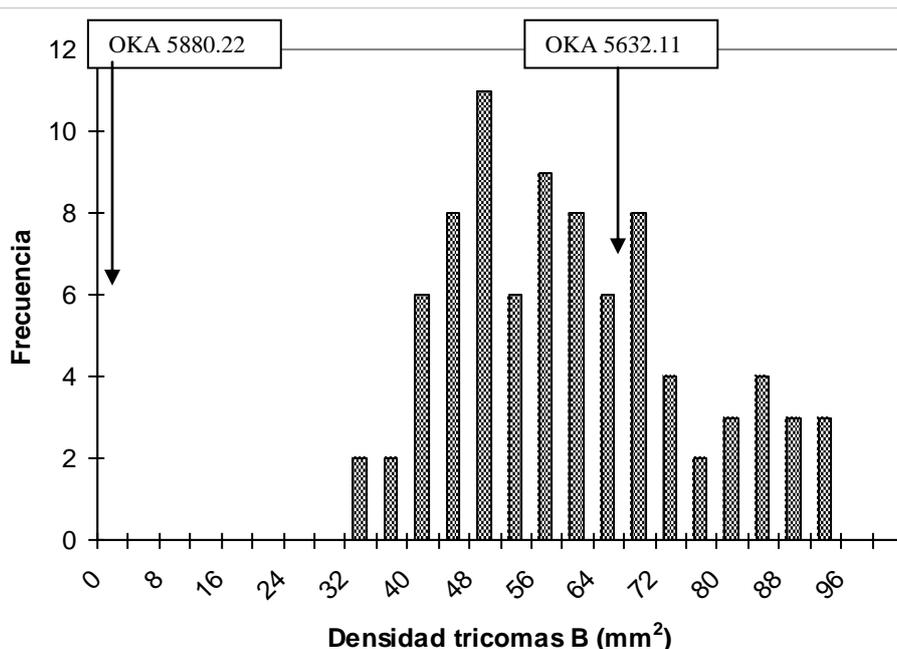


Figura 3. Distribución de frecuencias para tricomas tipo B en estadio 4-5 hojas en una progenie de *S. berthaultii* y sus progenitores Balcarce 2010/11.

En el recuento en estadio 4-5 hojas se obtuvo un promedio de 53,01 tricomas tipo B por mm² con un máximo de 94,86 y un mínimo de 28,29; el desvío estándar fue de 15,78. El coeficiente de variación fue de 18,41%. El parental OKA 5632.11 tuvo un promedio de 63,59 tricomas tipo B por mm² de nervadura. En OKA 5880.22 no se

encontraron tricomas tipo B. Durante el recuento en madurez se observaron tricomas no glandulares en la mayoría de los genotipos. Solamente 16 genotipos, de un total de 106, no presentaron este tipo de tricoma. Los progenitores OKA 5632.11 y OKA 5880.22 tuvieron un promedio de 30,86 y 65,88 tricomas no glandulares por

mm² de nervadura respectivamente. En la figura 7 se presentan las frecuencias de tricomas no glandulares en la población.

En el progenitor OKA 5632.11 se encontraron tricomas tipo A y B en el estadio temprano de crecimiento y en la madurez. En el progenitor OKA 5880.22 se encontraron solo tricomas tipo A en ambos momentos de crecimiento. En la descendencia se hallaron ambos tipos de tricomas en los dos momentos de recuento.

Se hallaron tricomas no glandulares en OKA 5880.22 tanto en el estadio temprano como en madurez. En el progenitor OKA 5632.11 y en la progenie sólo se encontraron tricomas no glandulares en el estadio de madurez. Labarte *et al.*, (2003) también describieron la presencia de tricomas tipo A, B y no glandulares en *ber*.

En el estadio de madurez muchos de los tricomas glandulares tanto A como B se encontraron dañados, sin su punta glandular y se confundían con tricomas no glandulares. Esto podría explicar los resultados obtenidos ya que en los conteos en madurez se encontraron tricomas no glandulares en OKA 5632.11 y en el 85% de la descendencia, mientras que en el estadio de 4-5 hojas no estaban presentes. Gibson (1979) señaló que algunos clones de *ber* presentaban tricomas tipo B en estadios de plántula y que en el estado de madurez no estaban presentes. A su vez, Tingey *et al.*, (1982) observaron que los tricomas tipo A que pierden su extremo no tienen la capacidad de recuperarlo. La pérdida de las glándulas de los tricomas podría explicarse por daños, ya sea por el envejecimiento en sí o por rozamientos físicos con insectos o riegos que rompen las glándulas de los tricomas. Por lo cual encontraron mayor resistencia a áfidos en invernáculo que a campo. Las plantas a campo sufren mayor estrés por lo que perderían mayor cantidad de tricomas que las plantas en invernáculo, haciéndolas más susceptibles al ataque de insectos.

Gibson (1971) describió que las hojas maduras son más susceptibles a áfidos que las hojas juveniles debido a la destrucción de los tricomas y también a la disminución de la densidad de los mismos por la mayor edad fisiológica de la planta.

La mayor densidad de los tricomas tipo B en la progenie con respecto al promedio de los padres podría suponer que existe segregación transgresiva y heterosis para este carácter. La densidad de tricomas tipo A de la progenie fue menor que el promedio de los padres tanto en el estadio de 4-5 hojas como en madurez, mostrando un comportamiento inverso a los tricomas B.

Estos resultados deberían ser confirmados con estudios genéticos con el objetivo de incorporar este carácter en programas de mejoramiento genético

No se halló correlación significativa entre la presencia y densidad de tricomas A y B y la incidencia de tizón tardío ($r = 0,12, 0,05$). Esto puede atribuirse a que los síntomas de la enfermedad aparecieron en un estado avanzado del cultivo que coincidió con la menor densidad de tricomas glandulares tipo A. Esto resultados no concuerdan con lo hallado por Lai *et al.*, (2000) quienes obtuvieron una correlación negativa entre la incidencia del tizón tardío de la papa y la densidad de tricomas tipo A

Conclusiones

Hay variabilidad para la densidad y tipo de tricomas y para el comportamiento frente a tizón tardío, lo cual indica que existe variabilidad fenotípica para estos caracteres en *S. berthaultii*.

No hay correlación entre presencia y densidad de tricomas y la incidencia de tizón tardío en *S. berthaultii*. Esto permite la selección independiente por ambas características y de esta forma se puede combinar resistencia a *P. infestans* con resistencia a insectos. Por ello existe un buen potencial para el uso de esta especie

para mejoramiento por estas características.

Conflictos de interés

Los autores declaran que la publicación de este artículo no tiene conflictos de interés.

Referencia citadas

Barquero, M., Gómez, L. Brenes, A. 2005. Resistencia al tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en clones promisorios de papa en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 29(3): 31-45. ISSN:0377-9424. www.mag.go.cr/rev_agr/inicio.htm www.cia.ucr.ac.cr

Budin, K. Z.. 2002. Genetic foci of *Solanum* species, *Petota* Dumort, resistant to *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary. *Genetic Resources and Crop Evolution* 49: 229–235

Buso, J. A; Boiteux, L.S. and S. J. Peloquin. 2003. Tuber yield and quality of 4x) 2x (FDR) potato progenies derived from the wild diploid species *Solanum berthaultii* and *Solanum tarijense*. *Plant Breeding* 122, 229—232. ISSN 0179-9541.

Capezio, S.; Bedogni, C.; Lucca, F. & Huarte, M., 2008. Utilización en mejoramiento de genotipos de *S. tarijense*, *S. gourlayi* y *S. tuberosum* y su evaluación frente al Tizón tardío XXIII Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa, 30 de noviembre al 6 de diciembre de 2008, Mar del Plata, Argentina. ISBN 978-987-544-275-7. p. 177-178

Colon, L. T., 1994. Resistance to *Phytophthora infestans* in *Solanum tuberosum* and wild *Solanum* species. Thesis. Wageningen Agricultural University. Netherlands.

Estrada, N. 2000. La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa. CIP, IPGRI, PRACIPA, IBTA, PROINPA, COSUDE, CID. 372 p

Gibson, R.W. 1971. Glandular hairs providing resistance to aphids in certain

wild potato species. *Annals of Applied Biology*. 68:113-119

Gibson, R.W. 1979. The geographical distribution, inheritance and pest-resisting properties of sticky-tipped foliar hairs on potato species. *Potato research*. 22(3):223-236.

Hannemann, R.E., 1989. The potato germplasm resource. *Amer. Potato Journal* 66: 655-667.

Hannemann, R. E.; Bamberg, J., 1986. Inventory of tuber-bearing *Solanum* species. Research Div. Coll. Agric. Life Sciences. Univ. Wisconsin. 216 p.

Horgan, F.G.; Quirino, D.T.; Lagnaoui A.; Pelletier, Y. 2007. Variable responses of tuber moth to the leaf trichomes of wild potatoes. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 125(1):1-12.

Labarte, A.; Clausen, A.M.; Alonso, S.I. 2003. Caracterización de poblaciones de *Solanum tarijense* Hawkes. Resumen del Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Caribe. Mar del Plata, p. 107

Lai, A.; Cianciolo, V.; Chiavarini, S.; Sonnino, A. 2000. Effects of glandular trichomes on the development of *Phytophthora infestans* infection in potato (*S. tuberosum*). *Euphytica*. 114:165–174.

Landeo, J. A., 1990. Progeny studies in potato to identify Horizontal Resistance to Late Blight and presence of R-genes. *American Potato Journal* (18): 560

Ochoa, C. M., 2001. Las papas de sudamerica. CIP, Lima, Perú. 535

Parlevliet, J. E., 1983. Can horizontal resistance be recognized in the presence of vertical resistance in plants exposed to a mixture of pathogen races. *Phytopathology* 73: 379.

Roy, B.A.; Stanton, M.L.; Eppley, S.M. 1999. Effects of environmental stress on leaf hair density and consequences for selection. *Journal of Evolutionary Biology*. 12(6):1089-1103.

Rubio-Covarrubias, O. A.; Díaz, C. & Díaz, M., 2002. Field Evaluation of Horizontal and Vertical Resistance to Late Blight in Potato in the Toluca Valley, Mexico. GILB'02 CONFERENCE Late blight: Managing The Global Threat. Abstracts. 11-13 July, Hamburg, Germany

SAS Institute, Inc. 1990. SAS/STAT User's Guide, version 6, 4th edition, vol 1. SAS Institute, Inc. Cary, NC. pp.890

Shaner, G., Finney, R. E. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopat.* 67: 1051-1056

Tingey, W.M.; Plaisted, R.L.; Laubengave R, J.E.; Mehlenbacher, S.A. 1982. Green peach aphid resistance by glandular trichome in *Solanum tuberosum* x *S. berthaultii* hybrids. *American Potato Journal* 59(6):241-251.