

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMÍA



“BÚSQUEDA DE RESISTENCIA AL TIZÓN TARDÍO (*Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary) EN ESPECIES SILVESTRES DE PAPA DEL GERMOPLASMA DEL CIP”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE

INGENIERA AGRÓNOMA

TANIA PRISCILLA ROJAS ESTRELLA

LIMA – PERÚ

2021

**La UNALM es titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24 – Reglamento de Propiedad Intelectual)**

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

“BÚSQUEDA DE RESISTENCIA AL TIZÓN TARDÍO (*Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary) EN ESPECIES SILVESTRES DE PAPA DEL GERMOPLASMA DEL CIP”

TANIA PRISCILLA ROJAS ESTRELLA

Tesis para optar el título de

INGENIERA AGRÓNOMA

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ing. Mg Sc. Rolando Egúsquiza Bayona
PRESIDENTE

Ing. Mg. Sc. Liliana Aragón Caballero
ASESORA

Ing. Mg. Sc. Wilmer Pérez Barrera
CO-ASESOR

Ph. D. Walter Apaza Tapia
MIEMBRO

Ph. D. Raúl Humberto Blas Sevillano
MIEMBRO

LIMA – PERÚ

2021

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de tesis a mis queridos abuelos Rosa y Dilmer, y a mis padres Tania y Luis, quienes me apoyaron incansablemente en este largo proceso, siempre motivándome a conseguir mis objetivos y aspiraciones. Y por supuesto a Dios, por la fortaleza que me brinda día a día.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia que siempre me ha brindado su apoyo incondicional en cada etapa de mi vida. A Eduardo, por ser el impulso que necesitaba para cumplir esta meta trazada.

Al Ing. M.Sc. Willmer Pérez Barrera, por brindarme la oportunidad y la confianza de llevar a cabo este presente trabajo, además cuyo apoyo y asesoramiento en cada etapa de la investigación permitió la culminación exitosa del mismo.

A la Ing. M.Sc. Liliana Aragon por su colaboración y consejos para presentar esta investigación.

Al Centro Internacional de la Papa y The OPEC found for International Development (OFID), por el financiamiento a través del proyecto *“Screening for resistance to late blight in Peruvian wild potato species and traditional landraces: A key contribution to improve farmers’ livelihoods in Peru and globally”*

A los señores Freddy Ventura y Elvis de la Torre, a quienes le estoy muy agradecida por el apoyo técnico y especialmente por compartir su experiencia conmigo.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

ABSTRACT

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1.	LA PAPA	4
2.1.1.	Historia.....	4
2.1.2.	Origen.....	4
2.1.3.	Clasificación taxonómica	5
2.1.4.	Pool o acervo genético	5
2.1.5.	Balance Numérico del Endospermo (EBN)	6
2.1.6.	Papas Silvestres	8
2.2.	PHYTOPHTHORA INFESTANS (MONT.) DE BARY	12
2.2.1.	Antecedentes	12
2.2.2.	Origen.....	12
2.2.3.	Clasificación taxonómica y biología	13
2.2.4.	Morfología.....	14
2.2.5.	Ciclo de vida.....	15
2.2.6.	Ciclo de la enfermedad.....	16
2.2.7.	Epidemiología	17
2.2.8.	Síntomas	18
2.2.9.	Variabilidad genética de Phytophthora infestans	19
2.1.10.	Importancia económica en el Perú	22
2.3.	INTERACCIÓN HOSPEDANTE-PATÓGENO	23
2.4.	RESISTENCIA AL TIZÓN TARDÍO.....	25
2.4.1.	Resistencia verdadera	25
2.4.2.	Resistencia aparente	27
2.4.3.	Factores que influyen en la resistencia a Phytophthora infestans	27
2.5.	EL MEJORAMIENTO EN LA PAPA	28
2.5.1.	Historia del mejoramiento genético de la papa para el tizón tardío	28
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
3.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	30
3.2.	REGISTRO DE DATOS METEOROLÓGICOS.....	30
3.3.	MATERIALES	30

3.3.1.	Material en estudio	30
3.3.2.	Material testigo.....	34
3.4.	MANEJO DEL PATÓGENO	35
3.4.1.	Obtención del inóculo de <i>Phytophthora infestans</i>	35
3.4.2.	Multiplicación del inóculo	35
3.4.3.	Colecta de esporangios.....	36
3.5.	MANEJO DEL MATERIAL GENÉTICO	36
3.5.1.	En el laboratorio	36
3.5.2.	En el invernadero de crecimiento.....	37
3.5.3.	En el invernadero de inoculación y tamizado.....	39
3.6.	EVALUACIÓN DE RESISTENCIA A <i>PHYTOPHTHORA INFESTANS</i>	40
3.6.1.	Evaluación de la enfermedad	40
3.6.2.	Registro y análisis de datos	40
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	43
4.1.	RESISTENCIA AL TIZÓN TARDÍO EN ESPECIES DE PAPA SILVESTRE.....	43
4.2.	VARIABILIDAD EN LA RESISTENCIA A <i>PHYTOPHTHORA INFESTANS</i>	50
4.3.	USO DE LAS ESPECIES SILVESTRES EN EL MEJORAMIENTO	52
V.	CONCLUSIONES.....	54
VI.	RECOMENDACIONES.....	55
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
VIII.	ANEXOS.....	70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: "Asignación del EBN a especies desconocidas, mediante cruces con EBN estandar conocidos.....	8
Tabla 2: Número de especies por cada serie de la sección Petota.....	10
Tabla 3: Acciones de papa silvestre evaluadas para la resistencia al tizón tardío.	31
Tabla 4: Características fenotípicas y moleculares del aislamiento de <i>P. infestans</i> empleado en el presente estudio.	35
Tabla 5. Valores de AUDPC, rAUDPC y Escala de Susceptibilidad (Yuen y Forbes, 2009)	44
Tabla 6. Clasificación de las acciones de papa silvestre según su valor dentro de la escala de susceptibilidad (Yuen y Forbes 2009).....	46
Tabla 7. Especies de papa silvestre cuyas acciones mostraron variabilidad en la respuesta al tizón tardío	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Doble fertilización en angiospermas.....	7
Figura 2: Número de especies silvestres de papa distribuidas a lo largo del continente americano .	11
Figura 3: Ciclo de vida de <i>Phytophthora infestans</i>	16
Figura 4: Modelo simplificado de las interacciones incompatibles y compatibles en la relación hospedante-patógeno.....	24
Figura 5: Manejo del material genético en el laboratorio del Banco de Germoplasma del CIP	38
Figura 6: Manejo en invernadero del material en estudio: a. Trasplante de plántulas en Jiffy-7. b. Crecimiento de las plántulas de papa silvestre.....	38
Figura 7: Inoculación planta por planta mediante la atomización de esporangios en el haz y envés de las hojas	39
Figura 8: Valores promedio de la escala de susceptibilidad de las variedades mejoradas empleadas como testigo en la investigación.....	44
Figura 9: Distribución de frecuencias de las accesiones de papa silvestre resistentes a las pruebas de susceptibilidad a <i>Phytophthora infestans</i> en condiciones de invernadero	48

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Lugares de colección de las accesiones silvestres de papa.....	70
Anexo 2: Obtención del inóculo de <i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary. a. Colecta de micelio y esporangios. b y c. Separación del micelio y esporangios.	73
Anexo 3: Invernadero de inoculación. a y b. Estructura de la cámara de inoculación automatizada. c. Plantas inoculadas.	74
Anexo 4: Reacción de las accesiones de papa silvestre al aislamiento POX067 de <i>Phytophthora infestans</i> . a. Manchas necróticas en <i>S. colombianum</i> (CIP763890). b. Signo de tizón tardío en <i>S. vidaurrei</i> (CIP760760). c y d. Puntos necróticos (resistencia vertical) en <i>S. hjertingii</i> y <i>S. mochiquirense</i>	75
Anexo 5: Sensor climático HOBO Pro v2 (Onset, U23-001, USA)	75
Anexo 6: Variabilidad en la respuesta de las accesiones silvestres de papa frente al tizón tardío.	76
Anexo 7: Distribuciones de frecuencias de las accesiones de papa silvestre resistentes a las pruebas de susceptibilidad a <i>Phytophthora infestans</i> en condiciones de invernadero. Los testigos son indicados por flechas. Variedades testigos: C= Chucmarina, K= Kawsay, P= Pallay poncho y Y= Yungay.....	77
Anexo 8: Resumen de temperatura ambiental y humedad ambiental en condiciones de invernadero (meses Agosto, Septiembre, Octubre, 2018).....	84

RESUMEN

El tizón tardío causado por el oomiceto *Phytophthora infestans* Mont. de Bary, es una de las enfermedades más destructivas del cultivo de papa a la cual se enfrenta el agricultor peruano. Los programas de mejoramiento genético están orientados a la búsqueda constante de genes que permitan al cultivo de papa defenderse de diversos patógenos que comprometen el rendimiento y la economía del agricultor. Esta búsqueda se realiza principalmente en especies silvestres de papa, las que poseen una innumerable diversidad de genotipos los cuales pueden ser útiles en la obtención de variedades resistentes. Con el objetivo de evaluar los niveles de susceptibilidad al tizón tardío, 57 accesiones de papa silvestre conservadas por el Centro Internacional de la Papa (CIP) fueron evaluadas en una serie de 9 experimentos continuos bajo condiciones de invernadero en Lima, Perú. Las plantas de cada accesión fueron inoculadas con el aislamiento POX067 de *Phytophthora infestans* caracterizado por pertenecer al linaje clonal EC-1, el cual es dominante en el país. Se emplearon cuatro variedades mejoradas como testigo: Chucmarina y Kawsay (resistentes), Pallay poncho (moderadamente resistente) y Yungay (susceptible). Se determinó el valor de AUDPC relativo y el valor en la escala de susceptibilidad propuesto por Yuen y Forbes (2009). Se logró identificar 6 especies con altos niveles de resistencia, los cuales tienen poco o ningún reporte previo, como *Solanum albornozii*, *S. lesteri*, *S. longiconicum*, *S. morelliforme*, *S. stenophyllidium* y *S. tarnii*.

Palabras clave: tizón tardío, papa silvestre, *Phytophthora infestans*, fitopatología.

ABSTRACT

Late blight is caused by the oomycete *Phytophthora infestans* Mont.de Bary, and it is one of the most destructive diseases of potato crop faced by the Peruvian farmers. The genetic breeding programs are geared towards to constant search for new genes that could allow potato crop to defend itself from many pathogens that could compromise yields and the farmer's economy. This search is mainly carried out in wild potato species, which have a great diversity of genotypes that can be useful to develop resistant varieties. In order to screen the susceptible levels to late blight, 57 wild potato accessions preserved by the International Potato Center (CIP) were evaluated in a series of 9 continuous trails under greenhouse conditions in Lima, Perú. Plants from each accession were inoculated with the isolate POX 067 of *Phytophthora infestans*, isolation that belongs to the clonal lineage EC-1, which is dominant in the country. Four improved varieties were used as controls: Chucmarina and Kausay (resistant); Pallay Poncho (moderately resistant) and Yungay (susceptible). The relative AUDPC (rAUDPC) and the value on the susceptible scale proposed by Yuen and Forbes (2009) were determined. Six species with high levels of resistance were identified, which have little to no previous report, as *Solanum albornozii*, *S. lesteri*, *S. longiconicum*, *S. morelliforme*, *S. stenophyllidium* and *S. tarnii*.

Key words: Late blight, wild potato, *Phytophthora infestans*, phytopathology.

I. INTRODUCCIÓN

Perú es el segundo país con mayor producción de papa en América después de Estados Unidos, y el primero en América del Sur (MINAGRI, 2017). Según la MINAGRI, en el 2019 se cosecharon alrededor de 330,000 hectáreas de papa, logrando alcanzar una producción de 5.3 millones de toneladas. En ese mismo año el Valor Bruto de Producción (VBP) de la papa representó el 25% del PBI agropecuario, convirtiéndose en el segundo producto más importante de la agricultura del país. El IV Censo Agropecuario indica que el cultivo de papa es el sustento económico de más de 710 mil familias, afincadas predominantemente en zonas andinas del país.

El principal problema que enfrentan los productores de papa, en su mayoría pequeños y medianos productores es el tizón tardío, ya que limita significativamente la productividad del cultivo. Bailón y Otazu (1992) estimaron pérdidas de 6 ton/ha debido al tizón tardío en campos de las zonas montañosas de Perú. A la pérdida parcial y/o total de los cultivos, también se suma la reducción de las utilidades como resultado del uso de fungicidas. Kromann et. al (2009) estimó que estos gastos representaban de 5 al 20% del total de los costos de producción. El número de aplicaciones puede variar, pero publicaciones recientes indican que en el Perú el productor promedio realiza más de 10 aplicaciones calendarizadas por campaña (Bustamante et al., 2008, Pérez et al., 2009), variando de acuerdo con el poder adquisitivo del agricultor y la presión de la enfermedad. Actualmente el control de esta enfermedad recae en el uso de costosos fungicidas, elevando los costos de producción a niveles insostenibles. Así mismo, se ha generado una gran demanda a nivel mundial por reducir el uso de agroquímicos, debido a la preocupación y cuidado de la salud y el medio ambiente. El camino para superar estas barreras en la producción es el empleo de variedades resistentes como parte de un manejo integrado.

La implementación del manejo integrado del tizón tardío involucra el uso de diversas medidas, entre ellas encontramos el empleo de cultivares resistentes, el cual permite reducir significativamente los costos de producción, además de contribuir a un manejo sostenible del cultivo, conservando y protegiendo los ecosistemas además del cuidado de la salud de los agricultores.

La obtención de variedades mejoradas proviene de prácticas de mejoramiento bastante complejas, así como de mucho tiempo y recursos invertidos. Las pruebas en invernaderos permiten realizar estudios de progenie, identificación del componente de resistencia, además de identificar genotipos resistentes dentro de una población mediante la evaluación de plántulas de papa, permitiendo utilizar una gran cantidad de individuos por familia, reduciendo la necesidad de emplear grandes extensiones de terreno para la evaluación de estos materiales (Bradshaw et al. 1995, Caligari et al. 1984, 1985).

Las especies de *Solanum* silvestres han sido empleadas ampliamente en el mejoramiento, pudiendo encontrar formas de resistencia bastante complejas, las cuales se originaron debido a la infección continua y la coevolución del hongo con especies de *Solanum* silvestre (Ruiz de Galarreta et al. 1998). *S. demissum* por ejemplo, ha proporcionado genes de resistencia al tizón tardío que han sido incorporados en más del 50 % de las variedades de papa (Ross y Hunnius 1986). Desafortunadamente esta especie provee resistencia cualitativa, la cual es específica y poco durable en campo. Un tipo de resistencia más duradera es aquella llamada de campo o resistencia cuantitativa, encontrada en especies silvestres como *S. stoloniferum* (J. Toxopeus 1964), *S. phureja* y *S. tuberosum* subsp. *andigena* (Niederhauser y Mills 1953). Las especies con este tipo de resistencia son menos susceptibles a las diferentes razas del patógeno, permitiendo al cultivo no sucumbir por completo al ataque de la enfermedad.

Debido a ello existe el interés y la necesidad de explorar las especies de papa silvestre en búsqueda de nuevas fuentes de resistencia al tizón tardío que se puedan utilizar en los futuros programas de mejoramiento, por ello se plantean los siguientes objetivos:

Objetivo general:

- Evaluar 57 accesiones de especies de papa silvestre (*Solanum* spp.) conservadas en el banco de germoplasma de Centro Internacional de la Papa (CIP) para identificar los niveles de resistencia al patógeno *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary y su posibilidad de emplearse en programas de mejoramiento.

Objetivos específicos:

- Evaluar la resistencia de las accesiones de papa silvestre al patógeno *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary:
 - Calcular el valor del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) y asignar a cada accesión un valor dentro de la escala de susceptibilidad de Yuen y Forbes, (2009).
 - Determinar la variabilidad de la resistencia de los genotipos empleados.
 - Revisar la posibilidad de uso de las especies resistentes al tizón tardío en programas de mejoramiento.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. LA PAPA

2.1.1. Historia

Los primeros vestigios de papa en el Perú provienen del Cañón del Chilca y poseen más de 7000 años de antigüedad, los cuales fueron encontrados por Engel. Moseley en 1975 encontró otros restos de papa en una excavación ubicada en Ancón-Chillón, los cuales datan de los años 4500 a.C. Un siguiente registro proviene de Casma, el cual data de 4000 a 3500 a.C. Todos estos restos arqueológicos demostrarían que la domesticación de la papa empezó desde el año 7000 a.C. Así mismo, restos de cerámicos de la cultura Moche, Chimú e Inca, indican que la papa fue muy conocida mucho antes del comienzo de la era Cristiana (Hawkes, 1990).

La papa fue introducida a Europa tardíamente en comparación con otras especies provenientes del nuevo mundo. Los reportes más antiguos de la presencia de la papa en Europa ocurre en las Islas Canarias en 1567 (Hawkes y Francisco-Ortega, 1993). Desde este punto, el cultivo de papa se extendió a toda Europa y el mundo.

Estudios recientes de ADN de muestras históricas de herbario y variedades locales provenientes de la India y las Islas Canarias, revelan que la papa andina era predominante en Europa en el año 1700, pero cuando se introdujo papa proveniente de Chile, ésta rápidamente se extendió y predominó (Ames y Spooner, 2008).

2.1.2. Origen

Se considera que el centro de origen de la papa está ubicado al norte del lago Titicaca, en los Andes del Sur de Perú, es allí donde se observa una gran diversidad de especies silvestres y donde probablemente inició la selección y domesticación de las primeras papas cultivadas. *Solanum stenotomun*, es considerada como la primera papa cultivada. Se cree que se originó a partir del complejo *S. brevicaule* (Spooner y Hetterscheid, 2007) o a partir de la especie silvestre diploide *S. leptophyles* (Hawkes, 1990). Análisis de AFLP ("Amplified fragment length polymorphism") recientes apoyan la hipótesis del origen monofilético de todas las papas

cultivadas (con excepción de las papas ácidas) provenientes de especies silvestres del complejo de *S. brevicaulis*, del sur del Perú (Spooner et al. 2005).

S. stenotomum habría dado origen a *S. andina* a través de repetidos procesos de poliploidización sexual, seguido de la hibridación interespecífica e intervarietal que permitió ampliar la diversidad y adaptabilidad genética de la papa de los Andes (Spooner y Hetterscheid, 2007).

2.1.3. Clasificación taxonómica

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i>

En 1990, Hawkes indicó que existen 235 especies de papa, entre cultivadas y silvestres. El número cromosómico básico (n) de la papa es 12, pero existen diversas series de poliploidías tanto en especies de *Solanum* portadoras o productoras de tubérculos como silvestres, hay un gran número de especies diploides ($2n$), 7 especies triploides ($3n$), 27 tetraploides ($4n$) y 3 pentaploides ($5n$), mientras que el nivel de hexaploidía ($6n$) solo ocurre en especies silvestres (Ortiz, 2001).

2.1.4. Pool o acervo genético

El término acervo genético o genepool en su traducción al inglés, fue propuesto por Harlan y de Wet (1971), modificado por Hammer et al. (2003), para complementar la taxonomía oficial, permitiendo conocer y clasificar el pool genético total de un grupo de especies potencialmente disponibles para el mejoramiento genético de una especie cultivada mediante cruzamientos del germoplasma. El acervo genético de un cultivo está dividido en tres categorías (Harlan y de Wet 1971) en función a la facilidad del intercambio (sexual) de genes.

En el libro “Genetics, genomics and breeding of potato”, Bradeen y Kole describen la división del acervo genético de la papa de la siguiente manera:

- Acervo genético Primario (GP1) agrupa todas las papas domesticadas (*S. tuberosum* ssp. *tuberosum*), incluyendo aquellas especies nativas y cultivares. El GP1 corresponde al concepto tradicional de especie biológica. Dentro del acervo genético primario no existe ninguna barrera para el intercambio genético; todo material genético perteneciente al GP1 es de libre acceso para los mejoradores.
- Acervo genético Secundario (GP2) incluye todas las especies de papa silvestre que pueden ser cruzadas sexualmente con especies domesticadas utilizando métodos de mejoramiento tradicionales, aunque algunas veces se requieran procesos especiales. En el GP2 se encuentra *S. demissum*, especie silvestre resistente al tizón tardío, que ha sido empleada en diversos programas de mejoramiento por varios años.
- Acervo genético Terciario (GP3) engloba a las especies silvestres que están relacionadas muy distantemente con aquellas cultivadas debido a la existencia de incompatibilidad en las cruces. Las especies del GP3 están aisladas sexualmente de las especies del GP1, por lo que no suelen ser usadas en los programas de mejoramiento. *S. bulbocastanum*, es una especie silvestre reconocida con un alto nivel de resistencia al tizón tardío (Niederhauser y Mills 1953, Black y Gallegly 1957), pero por estar dentro de GP3 está aislada sexualmente de *S. tuberosum*. Sin embargo, los genes de resistencia han sido transferidos usando cruzamientos puente e hibridación somática.

2.1.5. Balance Numérico del Endospermo (EBN)

El endospermo juega un rol importante en la evolución de las angiospermas debido a sus relaciones fisiológicas y genéticas con el embrión. En la semilla, es el tejido que sostiene el desarrollo del embrión y, en muchos casos a las plántulas durante su emergencia. Es resultado de la unión del núcleo espermático haploide con los dos núcleos centrales del saco embrionario. Además, el endospermo es sumamente importante en relación a la formación de la semilla, ya que alguna falla en él es usualmente la causa principal del colapso de semilla después de la doble fertilización (Brink y Cooper 1947).

Numerosas hipótesis fueron propuestas para explicar el desarrollo anormal de semilla en cruzamientos interploides e interespecíficos en angiospermas; pero la mayoría coinciden en

que la proporción de genomas 2:1, aporte materno y paterno respectivamente, es crucial para el desarrollo normal de este tejido después de la fertilización (Katsiotis et al. 1995). Lin (1984) ratificó este concepto, generando endospermos empleando diversos niveles de ploidía (2x a 8x) en maíz (Carputo et al. 1999).

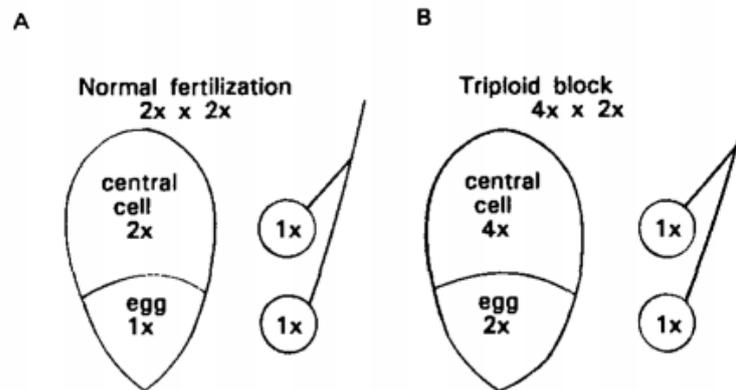


Figura 1: Doble fertilización en angiospermas. A. Doble fertilización normal en cruza $2x \times 2x$. B. Bloqueo después de la cruza $4x \times 2x$. Obtenido de The importances of Endosperm Balance Number in potato breeding and the evolution of tuber-bearing *Solanum* species por Ortiz y K. Ehlenfeldt Euphytica 60, 105–113. Copyright 1992 por Kluwer Academic Publishers.

Todos los resultados de las cruza realizadas en especies tuberíferas de *Solanum* no seguían la hipótesis antes expuesta. Por ello se propuso la hipótesis del Balance Numérico del Endospermo o EBN, propuesta por Jhonston et al. (1980). A cada especie se le asigna un EBN o ploidía “efectiva” que varía del 1 al 4 (Tabla 1); basado en su habilidad de hibridación con el resto, mediante pruebas con plantas estandar (Hanneman 1994, Ortiz y K. Ehlenfeldt 1992). Con el conocimiento de este concepto, el cual requiere una proporción EBN de 2:1 (materno:paterno), independientemente de la ploidía, surge un mejor entendimiento de las barreras en los cruzamientos interespecíficos. Las combinaciones más comunes de ploidía y EBN en la papa son: 6x (4EBN), 4x (4EBN), 4x (2EBN) y 2x (2EBN) y 2x (1EBN) (Jansky 2009).

Jansky (2009) en el libro “Breeding, Genetics, and Cultivar development”, menciona que los mejoradores usan los valores de EBN para determinar si las cruza interespecíficas serán

exitosas. El EBN también les permite diseñar las estrategias para acceder al germoplasma silvestre y manipular el EBN (Johnston et al. 1980).

Tabla 1: "Asignación del EBN a especies desconocidas, mediante cruza con EBN estandar conocidos.

EBN Desconocido	EBN Estandar	Resultado	Conclusión
4x 'A'	× 2x (2EBN)	Errado	'A' es 4x (4EBN)
	× 4x (4EBN)	4x	
4x 'B'	× 2x (2EBN)	3x	'B' es 4x (2EBN)
	× 4x (4EBN)	Errado	
2x 'C' (CD)¹	× 2x (2EBN)	Errado	Inconcluso
	× 4x (4EBN)	Errado	
4x 'C' (CD)¹	× 2x (2EBN)	3x	'C' es 2x (1EBN)
	× 4x (4EBN)	Errado	

Notas: Adaptado de The importances of Endosperm Balance Number in potato breeding and the evolution of tuber-bearing *Solanum* species por Ortiz y K. Ehlenfeldt (1992).

¹CD= duplicado por colchicine.

2.1.6. Papas Silvestres

El germoplasma de la papa (*Solanum* spp.) está comprendido tanto de especies cultivadas como silvestres. Existen 199 especies de papas silvestres las cuales están distribuidas en todo el continente Americano (Hijmans y Spooner, 2001). Este género posee un diverso pool genético en especies silvestres; el cual puede ser utilizado como una fuente constante de características en el mejoramiento de la papa.

La clasificación taxonómica de las especies silvestres de papa es bastante compleja, controversial y cambiante. Por un lado, Hawkes (1990) reconoció 7 especies cultivadas y 225 especies silvestres, las cuales todas estaban incluidas en la Sect. *Petota*, La sección *Petota* a su vez está dividida en 2 subsecciones: *Estolonifera* con dos series no tuberíferas: *Etuberosa* Juz. y *Juglandifolia* (Rydb) Hawkes; y *Petatoe* con 19 series de papa tuberíferas (Hawkes, 1990). Más adelante el número total de especies aceptadas fue disminuída y aquellas especies no tuberíferas que estaban incluídas dentro de la sección *Petota* fueron reubicadas en una nueva sección (Hijmans et al., 2002).

Actualmente las especies silvestres están comprendidas en 2 grandes secciones; *Petota* con 196 especies silvestres tuberíferas y *Etuberosum* con 3 especies silvestres no tuberíferas (Hijmans et al., 2002) (Tabla 2).

En un trabajo realizado por Hijmans y Spooner en el 2001 para evaluar la distribución geográfica de las especies silvestres de papa, reportan que la riqueza de especies silvestres es particularmente alta en las tierras altas tropicales de América Central y Sur, específicamente en áreas en los Andes del norte de Argentina, Bolivia, Ecuador y Perú (Figura 1); sobresaliendo este último país por tener el más alto número de especies silvestres y raras de papa.

Diversos programas de mejoramiento están realizando avances importantes en la búsqueda de herramientas que permitan a los cultivos desarrollarse en ambientes desfavorables y defenderse de los diversos patógenos que comprometen el rendimiento. Como se mencionó previamente, el género *Solanum* sección *Petota*, ofrece una innumerable diversidad de genes de especies silvestres de papa, las cuales poseen características de resistencia durable. Se conoce en la actualidad que especies silvestres como *S. demissum*, *S. pinnatisectum*, *S. trifidum* poseen resistencia contra el tizón tardío (Chen et al. 2003, Yang et al. 2017). Recientemente se ha dirigido toda la atención a la especie silvestre *S. bulbocastanum*, ya que se han logrado identificar cuatro diferentes loci que confieren un amplio espectro de resistencia a la racha, llamados *Rpi-Blb1/RB*, *Rpi-blb2*, *Rpi-blb3* y *Rpi-abtb* (Yang et al. 2017). Trabajos recientes muestran resultados prometedores mediante la clonación del gen mayor de resistencia RB de *S. bulbocastanum* para la formación de líneas transgénicas de papa cultivar Katahdin (Song et al. 2003).

Tabla 2: Número de especies por cada serie de la sección Petota.

Series	Número de especies
<i>Acaulia</i> Juz.	4
<i>Bulbocastana</i> (Rydb) Hawkes	2
<i>Circaeifolia</i> Hawkes	2
<i>Commeersoniana</i> Bukasov	2
<i>Conicibaccata</i> Bitter	38
<i>Cuneolata</i> Hawkes	4
<i>Demissa</i> Bukasov	8
<i>Ingifolia</i> Ochoa	3
<i>Lignicaulia</i> Hawkes	1
<i>Longipedicellata</i> Bukasov	7
<i>Maglia</i> Bitter	1
<i>Megistacroloba</i> Cárdenas and Hawkes	7
<i>Morelliformia</i> Hawkes	1
<i>Olmosiana</i> Ochoa	1
<i>Pinnatisecta</i> (Rydb.) Hawkes	11
<i>Piurana</i> Hawkes	13
<i>Polyadenia</i> Bukasiv ex Correl	2
<i>Simplicissima</i> Ochoa	2
<i>Tuberosa</i> (Rydb.) Hawkes	81
<i>Yungasensa</i> Correl	6

Nota: Adaptado de Atlas of Wild Potatoes de Hijmans et al. 2002.

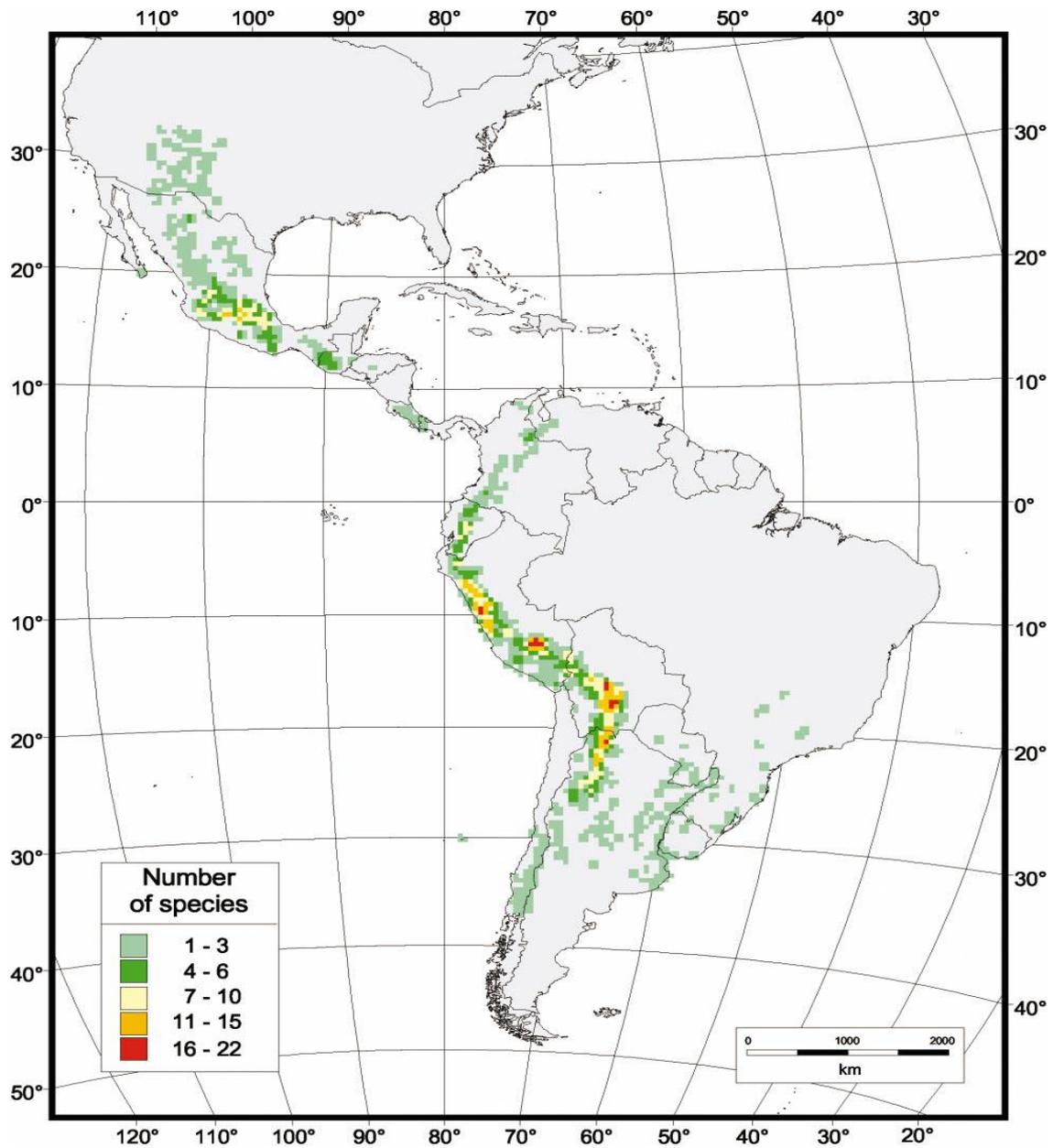


Figura 2.: Número de especies silvestres de papa distribuidas a lo largo del continente americano. Extraído de Geographic Distribution of Wild potato species por Hijmans y Spooner American Journal of Botany 88(11): 2101–2112.

2.2. *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary

2.2.1. Antecedentes

En Prusia, Martius (1842) fue el primero en mencionar que la enfermedad que devastaba el follaje y tubérculos de las plantas de papa era causado por un hongo, el cual llamó *Gangraena tuborum solani*, pero esta teoría no fue universalmente aceptada. En 1891, Bourje escribe una serie de publicaciones explicando diversas teorías acerca de esta nueva enfermedad que aparecía en campos a lo largo de toda Europa continental, las Islas Británicas e Irlanda. La mayoría de estas teorías mencionaban al clima como principal causante de la enfermedad.

El Dr. August Morren (1845) desde Bélgica, escribió numerosas cartas que respaldaban la teoría de Martius, que el causante del tizón de la Papa era un hongo. Esta teoría posteriormente fue aceptada por Montagne y la describió como *Botrytis infestans* gracias a la información que logró desarrollar. Finalmente a comienzos 1860, Anton de Bary describió el ciclo de vida del patógeno clasificándolo como un hongo, el cual llamó *Phytophthora infestans*, que en griego significa “destructor de plantas” (Large, 1940).

Phytophthora infestans es la especie más estudiada del género *Phytophthora* debido a la devastación producida en los campos de papa de Irlanda en 1845. Esta enfermedad no solo ocasionó pérdidas económicas, sino también de numerosas vidas, resultando en la migración de irlandeses hacia Europa y América. Desde entonces muchos brotes epidémicos surgieron en diferentes países. La enfermedad del tizón tardío se habría extendido en todos los países europeos, América del Norte, Rusia, Canadá, Australia, Finlandia, Nueva Zelanda e India, antes finales del Siglo XIX. A comienzos del Siglo XX la enfermedad llegaría a Sudamérica, África, México, Java, Cuba; Filipinas, Japón (Dutt 1979). El tizón tardío se ha propagado actualmente a todas las regiones productoras de papa en el mundo.

2.2.2. Origen

Existen muchas controversias sobre el origen de *Phytophthora infestans*, en el siglo XIX los científicos creían que este patógeno era originario de los Andes Sudamericanos (especialmente de Perú, Bolivia y Ecuador), el cual es el centro de origen de la papa y otras solanáceas (Abad y Abad 1997, Gomez-Alpizar et al. 2007). Sin embargo, solo pocos linajes

clonales de *P. infestans* han sido descritas proveniente de los Andes, así que esta hipótesis no ha sido muy aceptada (Adler et al. 2004, Gomez-Alpizar et al. 2007, Goodwin et al. 1994).

Actualmente se considera a las tierras altas del centro de México del Valle de Toluca como el centro de la diversidad genética del patógeno del tizón tardío (Fry 1993, Grünwald y Flier 2005). Los genes-R de resistencia al tizón tardío fueron descubiertos por primera vez en dos especies endémicas de papa, *S. demissum* y *S. stoloniferum* (Niederhauser y Mills 1953), la presencia de estos genes es resultado de un coevolución entre *P. infestans* y especies nativas de *Solanum spp.* Otros hechos que respaldan esta hipótesis son la ocurrencia de la reproducción sexual y la formación de la oospora. A esto se añade que existe menor diversidad mitocondrial en Toluca México y la predominancia de un linaje materno, lo cual sugiere un único origen para esta población (Flier et al. 2003, Gavino y Fry 2002).

2.2.3. Clasificación taxonómica y biología

Reino	Chromista o Stramenopila
Phylum	Oomycota
Clase	Oomycete
Orden	Peronosporales
Familia	Pythiaceae
Género	<i>Phytophthora</i>
Especie	<i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary

Fuente: (Erwin y Ribeiro, 1996)

Hawksworth et. Al (1995) y Erwin y Ribero (1996) presentan la actual clasificación del género *Phytophthora*, ubicándolo dentro del Reino Chromista, división Oomycota.

Phytophthora infestans está cercanamente relacionado taxonómicamente a las algas pardas y diatomeas y no es un hongo, a diferencia de su primera clasificación (Judelson y Blanco, 2005; Erwin y Ribeiro, 1996). La pared celular de los hongos está compuesta de quitina, mientras que en los oomycetos el componente principal es la celulosa y otros glucanos. *P. infestans* es un patógeno hemibiótrofo, es decir adapta dos formas de infección. En la fase temprana, éste necesita de células hospedantes vivas de las cuales obtiene los nutrientes

necesarios mediante unas estructuras especializadas de alimentación. A esta fase le sigue una necrotrófica, donde hifas secundarias se encargan de desintegrar el tejido para adquirir nutrientes de éste, finalizando con una extensa colonización y esporulación (Perfect y Green 2001, Nowicki et al. 2012).

2.2.4. Morfología

Micelio

Las estructuras somáticas o talos de *P. infestans* se denominan micelio. Está compuesta por filamentos (hifas) hialinos, ramificados y cenocíticos, es decir que no presentan septas o tabiques que dividan el micelio, excepto en cultivos antiguos, dañados o en la base de esporangióforos donde la septa a veces puede ser vista. En cultivos jóvenes el citoplasma fluye libremente a través de las hifas del micelio (Pérez y Forbes 2010, Erwin y Ribeiro 1996, Dutt 1979).

Esporangios y zoosporas

Los esporangios son esporas asexuales que se originan a partir de pedúnculos llamados esporangióforos, diferenciados ligeramente de las hifas vegetativas (Erwin y Ribeiro, 1996). Estos esporangios son partículas caducas, ovoides, elipsoidales a limoniformes, ahusados en la base, con un pedicelo menor de 3 mm y semipapilados apicalmente (Pérez y Forbes 2010). Al formarse un esporangio en la punta de un esporangióforo, éste se hincha ligeramente empujando al esporangio a un costado, permitiendo que el esporangióforo que le dio origen continúe con su crecimiento (Hooker, 1981). Existe la posibilidad de que los esporangios germinen emitiendo un tubo germinativo, pero con mayor frecuencia expulsan alrededor de 8 zoosporas biciliadas o biflageladas.

Órganos sexuales

P. infestans es un pseudo-hongo heterotálico con dos tipos de apareamiento A1 y A2 (Pérez y Forbes 2010). Los procesos sexuales involucran la producción del oogonio (saco en el cual se forman las oosporas) y anteridio (estructura masculina) midiendo 31 a 50 µm de diámetro, los cuales surgen de las puntas del micelio (Erwin y Ribeiro 1996, Dutt 1979). El anteridio que es anfígeno, en su fase de desarrollo inicial no intercambia citoplasma con el oogonio. El oogonio se expande, atraviesa el anteridio y posteriormente todos los núcleos en el oogonio -excepto uno- migran hacia la periferia. Este proceso da

origen a las oosporas, aquellas formadas en hojas tienen un diámetro promedio de 20 μm (24- 35 μm) y las formadas en medios de cultivo, entre 24-56 μm de diámetro.

2.2.5. Ciclo de vida

Asexual

Dutt (1979) describe que la estructura clave de la fase asexual son los esporangios los cuales pueden comportarse como un “conidio” y germinar directamente a través de un tubo germinativo que penetra la epidermis de la hoja e infecta a su hospedante. Comúnmente los esporangios de *Phytophthora* germinan indirectamente produciendo en su interior alrededor de 8 a 12 zoosporas uninucleadas, para ello requiere de agua libre y bajas temperaturas. Las zoosporas son liberadas cuando se rompe la pared esporangial al nivel de la papila, permitiendo a las zoosporas nadar libremente para posteriormente enquistar sobre alguna superficie sólida (Pérez y Forbes 2010). Las zoosporas enquistadas germinan también emitiendo un tubo germinativo el cual puede ingresar a la hoja a partir de los estomas o formar un apresorio, emergiendo la hifa de penetración para ingresar directamente atravesando la cutícula. Una vez dentro de la hoja se forma el micelio intra e intercelular proyectando el haustorio dentro las células la cual se puede observar en la Figura N° 2 (Hooker, 1981).

Andrews y Tommerup, (1995) en el libro *Advances in Plant Pathology* explican cómo se da el desarrollo de la esporulación. Al momento en que la lesión empieza a ser mucho visible, el micelio ramificado emerge a través de los estomas para formar una gran cantidad de esporangióforos en el envés de la hoja. Estas estructuras también se forman en los tallos. En el ápice del esporangióforo se forma los esporangios los cuales pueden germinar directa o indirectamente.

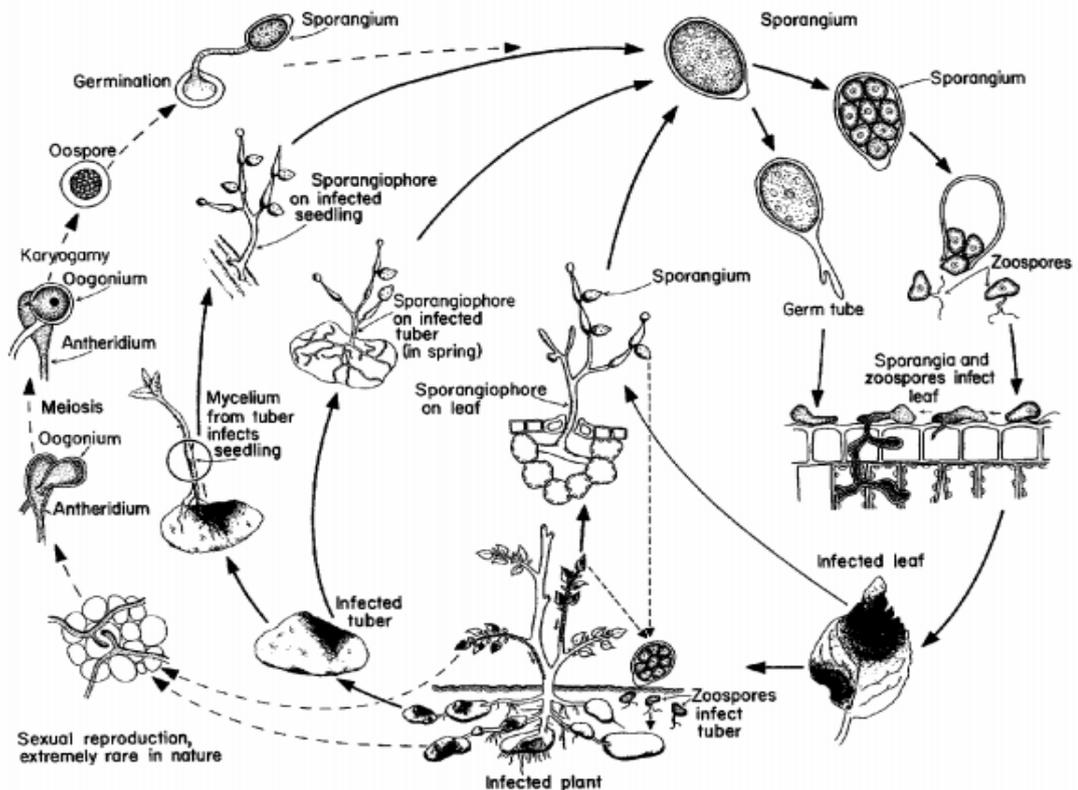


Figura 3: Ciclo de vida de *Phytophthora infestans*. Figura extraída de Plant Pathology de Agrios Copyright © 2005 Elsevier Inc. All rights reserved.

Sexual

Al ser *P. infestans* patógeno heterotálico, los gametangios se forman en estructuras separadas, debido a ello se requiere que los tipos de apareamiento A1 y A2 estén presentes para que ocurra la reproducción sexual. Un núcleo del anteridio ingresa al oogonio. Seguido de la cariogamia (fusión de dos núcleos), se forma una oospora diploide de pared gruesa y tienen la capacidad de germinar mediante un tubo germinativo que forma un esporangio apical, el cual puede liberar zoosporas o formar nuevamente un tubo germinativo (Hooker, 1981).

2.2.6. Ciclo de la enfermedad

En las zonas donde se ha encontrado ambos tipos de apareamiento como México, las oosporas parecen tener un rol importante en la supervivencia de *P. infestans* en condiciones adversas.

En áreas donde se cultiva papa todo el año, la fase de hibernación no parece tener un rol importante, sin embargo en lugares donde las estaciones son muy marcadas y la oospora no está presente, el patógeno sobrevive bajo la forma de micelio, ya sea en los tubérculos desechados y apilados en los bordes del campo, tubérculos infectados almacenados para semilla o en plantas voluntarias (Hooker, 1981). Mulder et al. (2005) indica que este micelio hibernante presente en los tubérculos almacenados o apilados constituye la fuente primaria de infección en el campo. Y cuando la fuente de infección, en este caso las pilas de tubérculos, están fuera o a un lado del campo, se establece un gran número de nuevos focos de infección simultáneamente (Western, 1972).

Van der Plank (1963) menciona que ocasionalmente *P. infestans* invade los brotes emergentes de la semilla y libera esporangios por encima del suelo, infectando las plantas circundantes, formando un nuevo foco de infección. Así mismo, las hojas se podrán infectar en caso éstas tengan contacto con partículas del suelo que contengan al patógeno (Schmitthenner 2000).

Romero et al. (2012) encontró que existe un efecto directo del grado de epifitía con la reducción del rendimiento, y que se debe de considerar al inicio de la tuberización como punto crítico del cultivo, por lo que el manejo debe encaminarse a retrasar el inicio de las epidemias en esta etapa y en reducir la intensidad del ataque de la enfermedad.

2.2.7. Epidemiología

La temperatura y humedad son los factores ambientales más importantes que influyen en el desarrollo del tizón tardío. Los esporangios se forman en el envés de las hojas y en los tallos y para ello requieren que la humedad relativa supere el 90 por ciento; mientras mayor sea el porcentaje de humedad más rápida y prolífica será la producción de esporangios. La esporulación puede ocurrir en rangos de temperatura de 3-26°C, pero el rango óptimo es 18-22°C. Hooker, (1981), Schumann y D'Arcy (2000), entre otros autores, indican que el esporangio de acuerdo a la temperatura a la cual esté expuesta puede optar por uno de dos comportamientos; geminar directamente formando el tubo germinativo cuando la temperatura oscile ente 21 a 26°C (óptimo 24°C) o germinar indirectamente, mediante la formación de zoosporas cuando la temperatura sea menos a 18°C (temperatura óptima de

12°C). Ambas formas de germinación solo son capaces de ocurrir en condiciones húmedas. Esto significa que la presencia de rocío o lluvia son imprescindibles. La germinación tarda aproximadamente una hora y media y la penetración entre una y dos horas, es decir que la infección se dará siempre y cuando las hojas permanezcan húmedas por un periodo mínimo de 3 horas (Mulder et al., 2005).

La influencia de la temperatura, lluvia y humedad relativa en el desarrollo del tizón tardío es empleado para monitorear el riesgo de la aparición de la enfermedad, con noches frías continuas el monitoreo constante es imprescindible ya que, días cálidos y periodos de humedad prolongados pueden resultar en severas epidemias y destruir los campos de papa en menos de dos semanas (Ingram, D. and Williams, P., 1991).

2.2.8. Síntomas

En hojas

Rich (1983) y Dutt (1979) mencionan que, en condiciones de clima frío y húmedo, la infección inicia comúnmente en las puntas o bordes de los folíolos observándose pequeñas lesiones de apariencia húmeda y coloración verde claro, las cuales luego se tornarían marrones o negros (1 o 2 días después). Estas manchas pueden estar acompañadas de halos de color verde-amarillo en los márgenes y no tienen un tamaño determinado pudiendo abarcar todo el foliolo. En el envés del foliolo, al borde de la lesión, se desarrolla una esporulación blanquecina siendo este el rasgo característico de la enfermedad. Una vez que el patógeno coloniza todo el foliolo, éstos se vuelven flácidos y mueren. Cuando las condiciones de humedad son prolongadas, todos los órganos aéreos se marchitan y pudren con gran rapidez, desprendiendo un aroma característico (Agrios, 2013).

Estas son las lesiones típicas bajo condiciones óptimas. Sin embargo, si el clima cambia, la temperatura incrementa y el porcentaje de humedad relativa disminuye las lesiones no avanzarán y se verán restringidas hasta que las condiciones ambientales sean favorables nuevamente.

En tallos

Largas lesiones se desarrollan en los tallos llegando a cubrirlo por completo. Estas lesiones comúnmente inician en los brotes debido a que éstos se mantienen húmedos por mayor tiempo, ya sea por el rocío, lluvia o riego. Los tallos infectados se vuelven frágiles y tienden a romperse con facilidad, observando muchas veces el tumbado o acame de las plantas (Dutt 1979, Mulder & Turkensteen, 2005, Banks et al. 2004).

En las áreas infectadas se puede observar los esporangios, a diferencia de las hojas la esporulación puede ocurrir reiteradas veces en el tejido afectado, incluso en las partes necróticas de la lesión (Mulder & Turkensteen, 2005).

Mulder & Turkensteen (2005) indican que las plantas que provienen de tubérculos enfermos mostrarán al menos una lesión en cada tallo. Inicialmente estas plantas crecerán aparentemente sanas, sin embargo, luego desarrollarán lesiones en todos los tallos independientemente de la presencia de hojas enfermas.

En tubérculos

Los tubérculos pueden infectarse durante su periodo de crecimiento, cosecha o almacenamiento. Además, ocurre en todos los tipos de suelos, especialmente aquellos pesados capaces de retener humedad. Pueden infectarse a través de las lenticelas, ojos y grietas en la piel (Mulder & Turkensteen, 2005). Es común que en zonas con presencia de lluvias, los tubérculos se infecten debido a los esporangios provenientes del follaje enfermo (Arora et al. 2014).

Cuando la enfermedad se encuentra en etapas muy avanzadas, se suele observar pudriciones; en estas condiciones es probable que se desarrollen pudriciones secundarias ocasionadas por otros hongos (*Fusarium* spp.) o bacterias (*Pectobacterium* spp., *Clostridium* sp. etc.) causando la desintegración completa del tubérculo (Pérez y Forbes 2010).

2.2.9. Variabilidad genética de *Phytophthora infestans*

La población de *P. infestans* antes de 1980 parecía reproducirse solo de manera asexual, por lo que pertenecía solo a un linaje clonal (US-1), con tipo de apareamiento A1, caracterizada

por un único genotipo (un haplotipo de ADN mitocondrial, un único genotipo multi-locus Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) y un genotipo di-locus Isozyme (Cooke et al. 2011). Desde entonces diversos cambios surgieron en la población mundial de este patógeno. Entre estos cambios se observó la aparición de la reproducción sexual originada por la presencia del tipo de apareamiento A2, la resistencia a fungicidas, incremento de la agresividad del patógeno, entre otros (Savazzini 2015, Runno-Paurson, E. et al. 2010). Debido a ello, el monitoreo de la población del patógeno es crucial para establecer medidas de control efectivas.

La observación de los cambios en la composición genética de *P. infestans* se realizan mediante la caracterización de poblaciones del patógeno determinada en diferentes niveles geográficos, y para ello se pueden emplear marcadores fenotípicos y genotípicos o moleculares. Los marcadores fenotípicos más empleados son: tipo de apareamiento, razas fisiológicas, virulencia y la resistencia a fungicidas. Los moleculares se basan en caracterizar al individuo a partir de muestras de tejidos o células, y son: análisis de isoenzimas, análisis del genoma mitocondrial mediante PCR-RFLP's, RAPDs, microsatélites y Fingerprinting del ADN nuclear (Dorado 2014)

Tipo de apareamiento o Mating type

Actualmente se conoce la existencia de dos tipos de apareamiento en *P. infestans*, los cuales son necesarios para iniciar la reproducción sexual debido a la naturaleza heterotálica de este oomiceto (Pérez y Forbes 2010). Con el descubrimiento del tipo de apareamiento A2 en el valle de Toluca, México (Grünwald y Flier 2005) y su posterior migración a las diferentes zonas de producción de papa alrededor del mundo (Sujkowski 1994), se reconoció que esto afectaría la dinámica poblacional de *P. infestans*, incrementando la variabilidad genética, dando como consecuencia un amplio espectro de posibilidades ante nuevas condiciones que hacen más difícil el control químico y cultural de la enfermedad, muy aparte de las mutaciones que puedan surgir en este patógeno.

Sensibilidad al metalaxil

El metelaxyl [metil N-(2-metioxiacetil)-N-(2,6 xylil)-DL-alaninato] pertenece al grupo de las acilalaninas dentro de la clase de las fenilamidas. Fue introducida en 1977 como un fungicida sistémico contra oomicetos, entre ellos el género *Pythophthora* y *Pythium*. Actúa selectivamente en la síntesis de ARN ribosomal de los oomicetos afectando la actividad de

las ARN polimerasas (Kubicki et al. 2018; PPDB, 2020). La resistencia al metalaxil emergió en diferentes lugares, por ejemplo, a comienzos de 1980 en Europa y en 1990 en Norte América, donde muchos aislamientos de *P. infestans* colectados de diferentes cultivos de papa infectados resultaron ser resistentes a metalaxil. En los Estados Unidos de Norte America, los genotipos resistentes a este compuesto pertenecían a los linajes clonales llamados US-6, 7, 8 y 11. (Matson et al. 2015, Goodwin et al. 1998).

En diferentes partes del Perú se han reportado múltiples aislamientos resistentes a metalaxil, especialmente aquellos que pertenecen al linaje clonal EC-1 el cual se encuentra infectando papa cultivada de manera predominante en Perú (Forbes et al. 2013).

Virulencia

La determinación de la virulencia si bien es uno de los más antiguos marcadores en los estudios de genética de poblaciones de *P. infestans*, permite comparar entre grupos de poblaciones del patógeno. El término virulencia es empleado como la habilidad genética del patógeno (una raza en particular) para sobrellevar la resistencia del hospedante, ocasionando una reacción de compatibilidad, haciendo que la enfermedad ocurra.

Las razas agrupan a los aislamientos basados en la virulencia relacionada con los genes R en diferentes genotipos de papa. La virulencia específica (raza fisiológica) de un aislamiento se determina mediante la prueba con 11 clones diferenciales de papa, que poseen genes de resistencia del R₁ al R₁₁. La virulencia en el patógeno sigue el esquema de la teoría gen por gen, estando ligado a la resistencia vertical, por ello, un aislamiento resulta más virulento que otro por su capacidad de vencer más genes R (Barquero et al. 2005, Pérez y Forbes 2010, Morales, 1998).

Linaje clonal

El término linaje clonal involucra a todos aquellos aislamientos que descienden asexualmente de un único genotipo identificado por medio de marcadores moleculares. La amplificación de fragmentos de ADN y la visualización mediante técnicas de electroforesis, la detección de fragmentos de ADN hidridizados por quimioluminiscencia en autoradiografías, son las huellas de ADN (“fingerprints”) de cada aislamiento que permite su caracterización y diferenciación entre linajes clonales (Fry y Goodwin 1997, Pérez y Forbes 2010).

Basados en diferentes análisis de huella de DNA (“fingerprint”), podemos inferir que las poblaciones de *P. infestans* en el Perú han cambiado notablemente desde los 80’s. En 1989,

(Tooley 1989) reportó que la población de *P. infestans* en el Perú era similar a aquellos de Estados Unidos, Europa y México, lo cual sugería que existía un ancestro común entre estas poblaciones, dominada entonces por el linaje US-1. Pérez et al. (2001) reportaron que el linaje clonal EC-1 había desplazado a US-1, constituyéndose en el nuevo linaje predominante; similares reportes se encontraron en Ecuador (Forbes et al. 1997), Venezuela y Colombia. Así mismo se encontró el linaje PE-3, reportado con menor frecuencia en el Sur y norte del país (Garry, G. et al. 2001).

2.1.10. Importancia económica en el Perú

En el Perú se produce y cosecha papa casi todo el año, esto gracias a su ubicación geográfica y condiciones climáticas, formándose tres ciclos o campañas agrícolas que varían entre sí de acuerdo a su ubicación con respecto al nivel del mar (Egúsquiza y Apaza 2001).

El tizón tardío es considerado por los agricultores de los Andes Peruanos como uno de los principales problemas sanitarios en el cultivo de papa, ya que limita significativamente la productividad llegando en algunos casos a producir pérdidas hasta del 100 % del cultivo (Ortiz, O., P. Winters, H. Fano 1999). Bailon y Otazu 1992 estimaron pérdidas de 6 ton/ha a causa de tizón tardío bajo las condiciones de montaña en Perú. Incluso habiendo tubérculos que se logren cosechar, si éstos presentan algún daño provocado por *P. infestans*, aun siendo leves, convierten al cultivo en inapropiado para el almacenamiento (Henfling 1987).

A la pérdida total de los cultivos, también se suman pérdidas económicas importantes como resultado del uso de fungicidas. Kromann et al. (2009) estimó que los gastos en estos productos representaban el 5 a 20 % del total de los costos de producción, dependiendo de sus recursos financieros y la presión de la enfermedad. El número de aplicaciones puede variar, pero publicaciones recientes indican que agricultores en Perú usualmente realizan más de 10 aplicaciones por campaña (Pérez et al. 2009, Bustamante et al., 2008).

Sin embargo, el desarrollo de la resistencia a fungicidas en el patógeno y la introducción de nuevas razas virulentas, incrementan la dificultad en el control de la enfermedad, no solo en Perú, sino en todo el mundo. Se han encontrado razas resistentes al metalaxyl, el cual hasta hace poco suponía para los agricultores un método eficaz de control. Por estas razones, la búsqueda de hospedantes resistentes se muestra como una forma viable de sobrellevar esta

enfermedad, disminuyendo así el número de aplicaciones por campaña y finalmente reduciendo los costos de producción.

2.3. INTERACCIÓN HOSPEDANTE-PATÓGENO

Las plantas están en constante contacto con patógenos potenciales como bacterias, hongos y virus, pero no todos estos encuentros resultan en enfermedad. Cuando un patógeno se pone en contacto con una planta, lo primero que se produce es el reconocimiento de éste para que luego se produzca una respuesta de defensa. Esta respuesta se produce gracias a compuestos químicos, llamados elicitores, producidos por organismos patogénicos y no patogénicos que se encuentran en el ambiente (Lambers et al. 1998). Existen tres tipos de interacciones entre el hospedante y patógeno:

Interacción no hospedante, la planta es incapaz de sostener al patógeno potencial ya que no cumple con los requerimientos del nicho ecológico que precisa (Hammond-Kosack 1996). Kombrink y Somssich (1995) menciona que la infección no se lleva a cabo debido a que la planta activa rápidamente sus mecanismos de defensa, evitando así ser afectada, o el patógeno es incapaz de reconocer e infectar a la planta. La resistencia que se genera puede ser definida como la capacidad de inmunidad de una especie de planta a todas las variantes de una especie de patógeno no adaptada (Lee et al. 2016).

Interacción incompatible (*hospedante resistente, patógeno avirulento*), una planta reconoce a una raza específica del patógeno como resultado de la interacción directa o indirecta del producto del gen dominante o semidominante de resistencia (gen-R) de la planta con un producto de un gen dominante de avirulencia (Avr) del patógeno, lo cual resulta en una incompatibilidad genética entre estos (Keen 1990). La alteración o pérdida en el gen R de la planta o en la avirulencia del patógeno (gen Avr) resultará en el establecimiento de la enfermedad (Hammond-Kosack y Jones 1997).

Estos productos (elicitores) una vez reconocidos desencadenan respuestas de defensa, esto se conoce como respuesta de **hipersensibilidad**. En una reacción de hipersensibilidad, las células infectadas pierden rápidamente su turgencia, se tornan de color café y posteriormente se necrosan. En estas células infectadas, así como en las células que las rodean, suceden

numerosos cambios fisiológicos como, pérdida de permeabilidad de las membranas, aumento de la respiración, acumulación y oxidación de compuestos fenólicos y la producción de fitoalexinas. Como resultado final se produce la muerte y colapso de las células infectadas y circundantes, así el patógeno queda aislado, evitando su propagación (Agrios 2005, Vleeshouwers et al. 2000).

Interacción compatible (*hospedante susceptible o moderadamente resistente, patógeno virulento*), no existe una correspondencia entre el gen-R y el gen Avr, por lo que no existe una incompatibilidad genética, la respuesta de defensa no es activada y la enfermedad se establece (De Wit 1997, Lamb et al. 1986)

En la figura 4, se ilustra cómo la presencia o ausencia de genes R en el hospedante y sus correspondientes genes Avr en el patógeno determinan el reconocimiento y definen si la interacción es compatible o no.

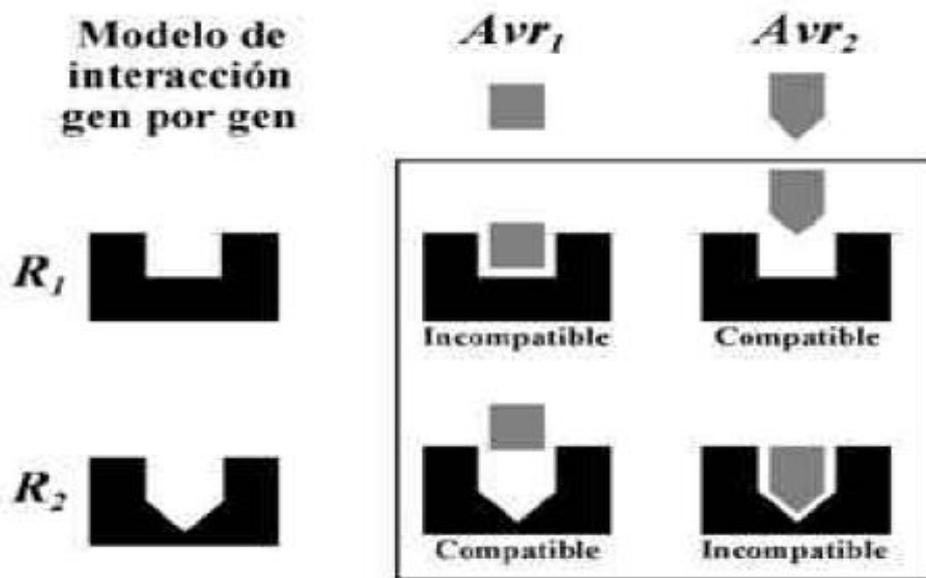


Figura 4: Modelo simplificado de las interacciones incompatibles y compatibles en la relación hospedante-patógeno. Obtenido del libro Mecanismos de defensa planta-patógeno de Madriz-Ordeñana Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 63 p. 22 - 32 , 2002

2.4. RESISTENCIA AL TIZÓN TARDÍO

La resistencia es la habilidad del hospedante a suprimir o retardar la actividad de un patógeno y puede tomar diversas formas. Es una propiedad relacionada con la virulencia de un patógeno (Collinge y Slusarenko 1987, Goodman et al. 1986). Los cultivares resistentes son un medio efectivo y económico en el manejo de patógenos de plantas, el cual ha sido explorado, en el caso del control del tizón tardío, desde la década de 1840. Existen numerosas fuentes de resistencia en especies de *Solanum* silvestres que forman tubérculos (Hanneman et al. 1986, Hawkes 1990, Ochoa 1999) y proveen resistencia a una diversidad de patógenos y plagas, entre ellas al tizón tardío ocasionado por *P. infestans*, pero muy pocas han sido estudiadas o empleadas en programas de mejoramiento.

Las plantas son resistentes a los patógenos debido a que pertenecen a grupos taxonómicos que son inmunes a estos patógenos (**resistencia de plantas no hospedantes**), porque tienen genes que proporcionan resistencia directa ante los genes que determinan la virulencia del patógeno en particular (**resistencia verdadera**) o bien debido a que, por varias razones, las plantas escapan o toleran la infección causada por este patógeno (**resistencia aparente**).

2.4.1. Resistencia verdadera

Es aquella controlada genéticamente por la presencia de uno, varios o muchos genes. El hospedante y el patógeno son más o menos incompatibles entre sí debido a la falta de reconocimiento químico entre ellos (Agrios 2005). La resistencia verdadera puede ser dividida en dos tipos:

La resistencia vertical, también conocida como cualitativa, específica o monogénica, el hospedante y el patógeno son incompatibles, el primero generalmente responde desarrollando una reacción de hipersensibilidad, de esta forma el patógeno no puede establecerse ni multiplicarse en la planta hospedante (Agrios 2005). En general la resistencia vertical inhibe o reduce el inóculo inicial del patógeno (Van der Plank 1963).

Para que se produzca este tipo de resistencia es necesario que exista un gen en el patógeno que es reconocido por un gen en la planta (Teoría del gen por gen), es decir hay un gen-R (de resistencia) en la planta para un gen Avr (avirulencia) en el patógeno y los productos de ambos interactúan específicamente como receptor-ligando, respectivamente (Flor 1971).

La resistencia vertical confiere a las plantas de papa la capacidad de ser resistente a un número determinado de razas de *P. infestans*. Está gobernada por genes mayores conocidos como genes. Hasta el momento 11 genes específicos de resistencia a tizón tardío han sido identificados en diferentes especies de papa silvestre (Torres 2002, Nowicki et al. 2012). Especies de *S. demissum* (Malcolmson y Black, 1966) y *S. stoloniferum* fueron usadas como fuentes de resistencia cualitativa, la cual es más sencilla de emplear en un programa de mejoramiento pero resulta ser menos estable o duradera debido a que los patógenos compatibles son rápidamente seleccionados bajo condiciones de campo.

El segundo tipo es **la resistencia horizontal**, Torres (2002), Nowicki et al. (2012) mencionan que la resistencia horizontal o cuantitativa está gobernada por genes menores (*r*) o por locus de caracteres cuantitativos (QTL's), todos éstos proporcionan ciertas características a la planta, por ejemplo, el grosor de la cutícula y/o la presencia de sustancias que inhiben la penetración y desarrollo del patógeno, el número de estomas, entre otros. Agrios (2005) indica que la resistencia horizontal está bajo el control de muchos genes y que cada uno de estos genes por separado es ineficaz para contrarrestar el efecto del patógeno. Aquellas plantas con resistencia cuantitativa son afectadas por el patógeno en campo, pero los daños y el porcentaje del área infectada son mucho menores que en plantas susceptibles, además de ser más estable en el tiempo y es debido a esta característica que es considerada en muchos programas de mejoramiento.

En la resistencia horizontal, la planta hospedante limita la penetración e invasión del tejido por cualquier raza del patógeno y disminuye la intensidad de la esporulación y el tiempo necesario para iniciar nuevas infecciones. A diferencia de la resistencia vertical, el nivel de resistencia horizontal de un cultivar reduce la frecuencia de infección, la tasa de crecimiento de la lesión y la producción de esporangios; y por otro lado alarga el período de latencia (Pieterse et al. 1998). Este tipo de resistencia ha sido reportada en especies de *S. tuberosum* (Turkensteen 1993, Wastie 1991) y en muchas especies silvestres de *Solanum* (Colon et al. 1995).

2.4.2. Resistencia aparente

La resistencia aparente se da cuando una planta o variedad susceptible permanece libre de la enfermedad y de síntomas. Este tipo de resistencia es resultado de los procesos de escape o de tolerancia a la enfermedad:

Escape, ocurre cuando las plantas genéticamente susceptibles no son afectadas, debido a la ausencia de uno de los tres factores necesarios para el desarrollo de la enfermedad (hospedante susceptible, patógeno virulento y ambiente favorable). El escape de la enfermedad puede darse cuando las semillas botánicas y vegetativas emergen más rápido, la planta madura más rápido y antes de que la temperatura sea favorable para el desarrollo de la enfermedad. También puede incluirse los factores que afectan la supervivencia, infectividad, multiplicación y diseminación del patógeno (Agrios 2005).

Tolerancia, capacidad de las plantas para producir una buena cosecha aun cuando son infectadas por un patógeno. La tolerancia es causada por características hereditarias específicas del hospedante que permiten que el patógeno se desarrolle, mientras la planta sobrevive y produce normalmente. No se conoce aún si la tolerancia tiene alguna relación con la resistencia horizontal (Agrios 2005).

2.4.3. Factores que influyen en la resistencia a *Phytophthora infestans*

Son diversas las reacciones que se pueden presentar en las plantas de papa cuando son sometidas a ciertos factores como:

- Lowings y García (1959) realizaron experimentos de campo indicando que si se cultivaba en campos donde previamente hubo un cultivo de leguminosas, o con una alta nutrición de nitrógeno inorgánica, podría asociarse con una mayor resistencia exhibida en el follaje de las plantas de papa los ataques de *P. infestans*. Este aumento en la resistencia se asoció con un crecimiento lento de las hifas parasitarias luego de la invasión (Lowings y Garcia Acha, 1959)
- El tipo de madurez (tardío o temprano) está asociada a la resistencia contra *P. infestans*, esta premisa fue evaluada por Marleen Visker en el 2005 y confirmó los resultados de Toxopeus que indica que la resistencia no específica contra *P. infestans* solo se encuentra en genotipos de madurez tardía (Toxopeus, 1958).

- Lugar de crecimiento de la planta, es decir si se cultiva en invernadero o en campo abierto. Awan y Struchtemeyer (1957) afirman que las lesiones no avanzaron o incrementaron en los folíolos de las plantas de papa crecidas en invernadero en comparación con aquellas que crecieron a campo abierto.
- La fertilización fosforada también influye en la resistencia contra *P. infestans*. Fuertes aplicaciones de fósforo retrasó el crecimiento de la lesión causada por esta enfermedad, mientras que el progreso en el tamaño de las lesiones era mucho más rápido en hojas de plantas que no recibieron aplicación de fósforo (Awan y Struchtemeyer, 1957).
- La edad de la planta y la posición de las hojas son factores importantes que influyen en la disminución de la resistencia de una variedad de papa. Muhinyuza et al. (2004) evaluó los efectos de la edad de la planta y la posición de la hoja en seis cultivares de papa donde se usó como dato el número de esporangios producidos por muestra. Encontró que cultivares resistentes como Jacqueline Lee (variedad desarrollada por Michigan State University) suelen ser susceptibles en etapas tempranas de crecimiento, pero luego se vuelven resistentes en etapas posteriores (40 días a más); por otro lado los cultivares susceptibles empleados no tuvieron cambios tan notorios en las evaluaciones. En cuanto a la posición de las hojas se demostró que en las hojas de la posición 5 (contadas desde la base de la planta hacia arriba) los valores de número de esporangios eran muchos mayores que en posiciones superiores, especialmente comparado con las hojas más recientes. En conclusión, existe una disminución gradual de la resistencia desde las hojas apicales hacia las basales. En el 2003, Visker et al. encontraron resultados similares, la diferencia radica en la evaluación de la tasa de crecimiento lineal de la lesión.

2.5. EL MEJORAMIENTO EN LA PAPA

2.5.1. Historia del mejoramiento genético de la papa para el tizón tardío

Los programas de mejoramiento en búsqueda de la resistencia al tizón tardío han sido realizados desde el siglo XIX, después de la catastrófica hambruna ocurrida en Irlanda. Autores como Black & Gallegly, (1957) y Van der Plank (1968) explican que *S. demisum* fue la especie que tuvo mayor atención, convirtiéndose en la más usada en los programas de mejoramiento, especialmente aquella con resistencia hipersensitiva, más tarde descrita como resistencia vertical o específica. Para 1970, se empezó a evidenciar la pérdida rápida de

resistencia en las variedades desarrolladas, por lo que los programas de mejoramiento cambiaron de enfoque, buscando ahora lograr variedades con resistencia horizontal. *S. stoloniferum* fue otra especie encontrada con genes de resistencia (genes-R) similares a *S. demissum* por lo que estos también fueron vencidos en poco tiempo.

Después de que los genes-R originados por ambas especies fueron vencidos por el tizón tardío, surgió un gran interés y necesidad de buscar nuevas fuentes de resistencia, por lo que las investigaciones se orientaron a probar la diversidad de especies silvestres y nativas como: *S. bulbocastanun*, *S. stoloniferum*, *S. phureja*, *S. verrucosum*, *S. schenckii*, *S. venturi*, donde un total de 20 genes R fueron aislados y clonados (Sood, Bhardwaj, Pandey y Chakrabarti, 2017).

Desde 1972, el Centro Internacional de la Papa (CIP) ha trabajado buscando desarrollar altos y estables niveles de resistencia al tizón tardío. Actualmente tiene una colección de 1500 accesiones que representan a 110 especies. Las investigaciones que se realizan en esta colección son: i) caracterizar la naturaleza de la resistencia (específica o no específica); ii) estimar la diversidad de los genes de resistencia presentes; y iii) proveer nuevas fuentes genéticas para programas de mejoramiento (Trognitz et al. 2001).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios e invernaderos de la Estación Experimental del Centro Internacional de la Papa (CIP), ubicada en la Molina, Lima, Perú.

- Latitud Sur: 12° 4'37.13"S
- Longitud Oeste: 76°56'47.98"O
- Altitud: 243 m.s.n.m.

3.2. REGISTRO DE DATOS METEOROLÓGICOS

Durante el periodo de la investigación los datos de temperatura y humedad del ambiente de inoculación fueron registrados mediante un sensor climático HOBO Pro v2 (Onset, U23-001, USA) (**Anexo 7**).

3.3. MATERIALES

3.3.1. Material en estudio

Para la investigación se utilizaron 57 accesiones de 30 especies de papa silvestre de poblaciones mantenidas por el Banco de Germoplasma del CIP (Tabla 3). Estas especies de papa fueron elegidas teniendo en consideración la representación taxonómica y geográfica de las papas silvestres, ya que se contó con especies de 8 series taxonómicas distintas y cada accesión provenía de un lugar de colección diferente.

Tabla 3: Acciones de papa silvestre evaluadas para la resistencia al tizón tardío.

Series y especies				
CIP No.	Código de colección	2n	EBN	País
CONICIBACCATA				
<i>S. agrimonifolium</i> Rydb (agf)				
CIP 763944	SHGF 4208	48	2	México
CIP 763946	SHGF 4227	48	2	México
<i>S. colombianum</i> Dunal (col)				
CIP 762812	SLY 5139	48	2	Ecuador
CIP 763890	CCC 5145	48	2	Colombia
<i>S. longiconicum</i> Bitter (lgc)				
CIP 763965	BRE 0303131	48	<i>Desconocido</i>	Costa Rica
CIP 763966	BRE 0303133	48	<i>Desconocido</i>	Costa Rica
<i>S. otites</i> Dunal (oti)				
CIP 761276	OCH 11779	48	<i>Desconocido</i>	Venezuela
CIP 763948	SVR 6315	48	<i>Desconocido</i>	Venezuela
<i>S. oxycarpum</i> Schiede (oxc)				
CIP 761931	OCH 14213	48	2	México
CIP 763982	RSSV 961	48	2	México
<i>S. tundalomense</i> Ochoa (tnd)				
CIP 761593	OCH 13366	72	4	Ecuador
CIP 761606	OCH 13396	72	4	Ecuador
<i>S. violaceimarmoratum</i> Bitter (vio)				
CIP 760330	HCH 5040	24	2	Bolivia
CIP 761342	OCHS 11901	24	2	Bolivia
LONGIPEDICELLATA				
<i>S. hjertingii</i> Hawkes (hjt)				
CIP 764288	TRHRG 158	24	2	México
CIP 764289	TRHRG 160	48	2	México
MEGISTACROLOBA				
<i>S. boliviense</i> Dunal (blv)				
CIP 760538	HAM 206	24	2	Bolivia
CIP 761356	OCH 11938	24	2	Bolivia
MORELLIFORMIA				
<i>S. morelliforme</i> Bitter & Muench (mrl)				
CIP 764271	SMHV 7030	24	<i>Desconocido</i>	Guatemala
CIP 764293	TRHRG 281	24	<i>Desconocido</i>	México

Continuación

Series y especies				
CIP No.	Collector's No	2n	EBN	País
PINNATISECTA				
<i>S. stenophyllidium</i> Bitter (sph)				
CIP 763861	TRHRG 219	24	1	México
CIP 761891	OCH 14149	24	1	México
<i>S. tarnii</i> Hawkes & Hjert (trn)				
CIP 764285	TRHRG 56	24	<i>Desconocido</i>	México
CIP 764286	TRHRG 57	24	<i>Desconocido</i>	México
PIURANA				
<i>S. albornozii</i> Correl (abz)				
CIP 761164	OCHS 11007	24	2	Ecuador
CIP 763735	SCL 5033	24	2	Ecuador
<i>S. tuquerrense</i> Hawkes (tuq)				
CIP 762711	HAW 2547	48	2	Colombia
CIP 763760	SCL 5111	48	2	Ecuador
POLYADENIA				
<i>S. lesteri</i> Hawkes & Hjert (les)				
CIP 764265	SHGRF 4155	24	<i>Desconocido</i>	México
TUBEROSA				
<i>S. ancophilum</i> (Correl) Ochoa (acp)				
CIP 761448	OCH 12086	24	2	Perú
CIP 761459	OCH 12099	24	2	Péru
<i>S. andreanum</i> Baker (adr)				
CIP 762677	CCC 5142	24	2	Colombia
CIP 763108	HAW 2546	24	2	Colombia
<i>S. avilesii</i> Hawkes & Hjert (avl)				
CIP 762527	HHA 6519	24	<i>Desconocido</i>	Bolivia
CIP 763012	HHA 6522	24	<i>Desconocido</i>	Bolivia
<i>S. chilliasense</i> Ochoa (chl)				
CIP 761590	OCH 13350	48	2	Ecuador
CIP 763742	SCL 5057	48	2	Ecuador
<i>S. hoopesii</i> Hawkes & K Okada (hps)				
CIP 763015	HAO 160	24	<i>Desconocido</i>	Bolivia
CIP 763016	HAO 161b	24	<i>Desconocido</i>	Bolivia

Continuación

Series y especies				
CIP No.	Collector's No	2n	EBN	País
TUBEROSA				
<i>S. immite</i> Dunal (imt)				
CIP 761040	OCH 11689	24	1	Perú
<i>S. incamayoense</i> K. Okada & A. Clausen (inm)				
CIP 763698	OKA 4853	24	<i>Desconocido</i>	Argentina
CIP 763702	OKA 4894	24	<i>Desconocido</i>	Argentina
<i>S. kurtzianum</i> Bitter & Wittm (ktz)				
CIP 764233	OKA 4940	24	2	Argentina
CIP 764234	OKA 4962	24	2	Argentina
<i>S. mochiquense</i> Ochoa (mcq)				
CIP 761234	OCHS 11613	24	1	Perú
CIP 763002	OCHS 16232	24	1	Perú
<i>S. neocardenasii</i> Hawkes & Hjert (ncd)				
CIP 764034	NEO 16	24	<i>Desconocido</i>	Bolivia
CIP 760429	HHA 6496	24	<i>Desconocido</i>	Bolivia
<i>S. neorossii</i> Hawkes & Hjert (nrs)				
CIP 764170	HHR 3873	24	<i>Desconocido</i>	Argentina
CIP 764172	HOFF 1875	24	<i>Desconocido</i>	Argentina
<i>S. pampasense</i> Hawkes (pam)				
CIP 760361	HHCH 5229	24	2	Perú
CIP 760362	HHCH 5230	24	2	Perú
<i>S. tacnaense</i> Ochoa (tcn)				
CIP 761233	OCH 11612	24	2	Perú
<i>S. vernei</i> Bitter & Wittm (vrn)				
CIP 763728	OKA 7614	24	2	Argentina
CIP 763729	OKA 7635	24	2	Argentina
<i>S. vidaurrei</i> Cárdenas (vid)				
CIP 763137	HOFF 1704	24	2	Argentina
CIP 760760	HOFF 1725	24	2	Argentina

3.3.2. Material testigo

- **INIA 310 - Chucmarina (CIP 393371.58)**: Variedad con un alto potencial de rendimiento (30-40 t/ha) y altamente resistente al tizón tardío (*P. infestans*) y al virus X de la papa (PVX), proviene de la población B del programa de mejoramiento para resistencia horizontal al tizón tardío del CIP, y es el resultado de la cruce 387170.16 x 389746.2. De periodo vegetativo semi precoz (110-120 días), puede ser cultivada desde los 2200-3800 m. s. n. m., en zonas frías y templadas, además requiere de suelos semi profundos y con buen drenaje (de Haan 2012).
- **INIA 311 - Pallay Poncho (CIP 399085.23)**: Esta variedad, resultado de la Selección Varietal Participativa (SVP) en las comunidades campesinas de Cochacochayocc, Pachamachay y Turuyuq (Cusco), tiene como principales características: alta resistencia a enfermedades como la ranca (*P. infestans*), virus X de la papa (PVX) y virus del enrollamiento de las hojas de la papa (PLRV), alta capacidad de rendimiento de tubérculos (25 a 30 t/ha), buena calidad culinaria y adaptación ambientes adversos, tolerando condiciones de heladas y granizo. Así mismo, Pallay poncho es una variedad que puede ser cultivada desde los 2500 hasta los 4200 m. s. n. m., de periodo vegetativo semi precoz (120-150 días) (de Haan 2012).
- **INIA 321 - Kawsay (CIP 399062.118)**: La variedad Kawsay originada por el cruzamiento entre las variedades nativas CIP 395285.5 y 395282.3, pertenecientes a *S. tuberosum* ssp. *andigena*, tiene un amplio rango de adaptación en la sierra del país, especialmente en la zona altoandina, desde los 2500 hasta los 4100 m s. n. m. Kawsay es una variedad semi precoz (120-150 días) capaz de alcanzar rendimientos potenciales de hasta 40 t/ha. Esta variedad desarrollada por el CIP a través del Programa Global de Genética y Mejoramiento dentro de un proyecto para resistencia al tizón tardío presenta un alto grado de resistencia a esta enfermedad, así como también alto contenido de hierro, zinc y vitamina C (INIA, 2013).
- **Yungay (CIP 720201)** : La papa Yungay, una variedad liberada en 1971 por la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) abarca el 22 por ciento del área total de papa sembrada siendo la más cultivada y difundida en el país (Pradel et al, 2017).

3.4. Manejo del patógeno

3.4.1. Obtención del inóculo de *Phytophthora infestans*

El inóculo empleado fue el aislamiento POX 067 perteneciente a la colección del CIP, criopreservado en nitrógeno líquido, contenido en viales como suspensión densa de esporangios a -156°C. Las características del aislamiento se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4: Características fenotípicas y moleculares del aislamiento de *P. infestans* empleado en el presente estudio.

Aislamiento	POX 067
Hospedante	<i>S. tuberosum</i>
Departamento	Pasco
Zona	Oxapampa
Tipo de Apareamiento	A1
Linaje Clonal	EC-1
Resistencia a Metalaxyl	Resistente
Virulencia	1,2,3,4,5,6,7,10,11

Nota: Adaptado de Late blight resistance linkages in a novel cross of the wild potato species *Solanum paucisectum* (series *Piurana*) por Villamon et al. 2005.

3.4.2. Multiplicación del inóculo

El aislamiento fue inoculado en rodajas de papa de la variedad susceptible Huayro (*S. chaucha* cv. Huayro). Se escogieron tubérculos medianos, sanos y que no tuviesen coloración verde. La superficie de cada tubérculo fue previamente lavado y desinfectado sumergiéndolo en una solución de alcohol al 70% por unos pocos segundos y luego flameados. Empleando un cuchillo esterilizado se cortaron rodajas de 0.5 cm de grosor. Las rodajas fueron colocadas dentro de envases plásticos (“taper ware”) conteniendo una pequeña cantidad de agua en el fondo, sobre soportes de malla metálica (cámara húmeda). Dos gotas de suspensión de esporangios provenientes de criopreservación fueron colocados sobre cada disco de papa. Las cámaras húmedas se sellaron herméticamente y fueron incubadas a 18°C, dentro de un biotrópico por una semana.

3.4.3. Colecta de esporangios

El micelio que se desarrolló sobre la superficie de las rodajas de los tubérculos fue lavado con agua destilada y luego se filtró por un sistema de Milipore de membranas de nylon con poros de 10 µm de diámetro, separando de esta forma el micelio de los esporangios.

Para el ajuste de la concentración del inóculo, se empleó un hematocímetro Fuchs y Rosenthal (Electron Microscopy Sciences-EMS, Catalog #63512-10, EEUU) éste cuenta con dos campos, uno superior e inferior. Cada campo consta de 16 cuadrados. Para realizar la aproximación de la concentración de esporangios en la solución fue necesario contar el número de esporangios por cuadrado de cada campo superior e inferior.

Y se empleó la siguiente fórmula:

$$N^{\circ} \frac{\text{esporangios}}{\text{ml}} = \frac{(N^{\circ} \text{ esp. Campo Superior} + N^{\circ} \text{ esp. Campo inferior}) \times 300}{2}$$

La concentración que se usó para las pruebas de inoculación fue de 3000 esporangios/ml.

3.5. Manejo del material genético

3.5.1. En el laboratorio

Las plantas se obtuvieron a partir de la germinación de semilla botánica de accesiones de papa silvestre mantenidas en el Banco de Germoplasma del CIP. La germinación se realizó en cámaras acondicionadas con temperatura de 18°C, 80% de humedad relativa, fotoperiodos de 12 horas, para finalmente ser trasplantadas en pellets (Jiffy-7®) de sustrato comprimido. A continuación, se describe el procedimiento seguido:

- La muestra fue dividida en grupos de 100 semillas cada uno y se depositaron en viales de 4 ml. En el tratamiento de pre-germinación, las semillas fueron puestas en inmersión en una solución acuosa de ácido giberélico (1500 ppm) de 6.5 de pH por 24 horas para romper el periodo de dormancia de la semilla y así uniformizar la germinación (Figura 5).

- al transcurrir 24 horas, con ayuda de una pipeta estéril se procedió a retirar todo el ácido giberélico de los viales para iniciar el proceso de doble lavado de las semillas, utilizando abundante agua destilada,
- las semillas fueron colocadas en placas Petri en cuyo interior se colocó papel filtro Whatman™. Se evaluó el desarrollo de la germinación al 7, 14 y 21 día para establecer el momento oportuno del trasplante. El riego se realizó de manera periódica, pre
- via evaluación (Figura 5).

El trasplante se llevó a cabo cuando la plántula emergió por completo, es decir contaba con radícula y hojas cotiledonales bien conformadas.

3.5.2. En el invernadero de crecimiento

Las plántulas de cada accesión de papa silvestre fueron trasplantadas en Jiffy-7 a las 2 o 3 semanas de la germinación, dependiendo de la velocidad de crecimiento de cada accesión. Los pellets de Jiffy-7 fueron previamente humedecidos y desinfectados con benomyl 50% para prevenir posteriores problemas de pudrición y chupadera en las plántulas recién trasplantadas. El riego se realizó de manera periódica, realizando la primera fertilización al mes del trasplante usando el fertilizante soluble GROW MORE PREMIUM 20-20-20 (Grow More Inc, N° catalogo HGC721729, EEUU) que cuenta con una formula balanceada recomendada para cualquier etapa de crecimiento.

Las plantas fueron trasplantadas en macetas de 4 pulgadas cuando éstas alcanzaron 15 centímetros de altura y buena conformación de raíces. El sustrato empleado fue SOGEMIX PG-M (PROMIX, N° Catálogo 6463P, EEUU) el cual está hecho a base de turba de *Sphagnum* sp. de granulación fina. Así mismo al ser cada planta una unidad experimental, se identificó colocando en cada maceta una etiqueta con el código CIP, número de submuestra (del 1 al 100) y un código de barras bidimensional cuadrado (QR) como se observa en la figura 5 y 6.

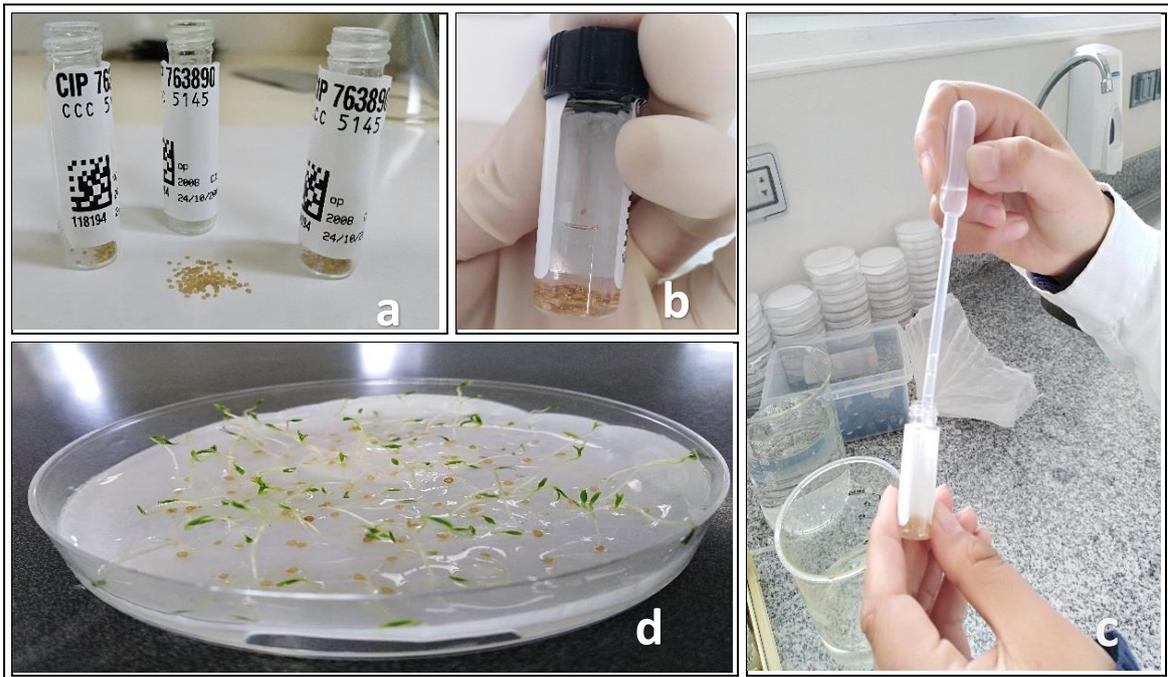


Figura 5: Manejo del material genético en el laboratorio del Banco de Germoplasma del CIP. a. Semillas de una accesión separadas en viales. b. Semillas embebidas en solución de ácido giberélico (tratamiento pre-germinativo). c. Lavado de las semillas con agua destilada. d. Semillas germinadas a los 14 días después de la siembra.



Figura 6: Manejo en invernadero del material en estudio: a. Trasplante de plántulas en Jiffy-7. b. Crecimiento de las plántulas de papa silvestre. c. Plantas recién trasplantadas a macetas. d. Planta correctamente identificada y lista para inocular.

3.5.3. En el invernadero de inoculación y tamizado

El lugar de tamizado fue provisto de sistemas de nebulización controlado por un termostato. Las paredes internas de la infraestructura fueron cubiertas por una malla de tela (“yute”) humedecidas para mantener la humedad del ambiente. En las noches el invernadero era programado para mantener la temperatura en un rango (15-20°C) propicio para la enfermedad.

Para la inoculación de las plantas con el patógeno se usó un atomizador manual, asperjando los esporangios en todo el área foliar de la planta, con especial énfasis en el envés de los folíolos debido a la mayor presencia de estomas que permiten el fácil ingreso del patógeno. Todas las inoculaciones fueron llevadas a cabo a partir de las 4:00 pm, cuando la temperatura del ambiente descendía (Figura 7).



Figura 7: Inoculación planta por planta mediante la atomización de esporangios en el haz y envés de las hojas.

3.6. Evaluación de resistencia a *Phytophthora infestans*

3.6.1. Evaluación de la enfermedad

La infección al follaje ocasionado por el pseudo hongo *P. infestans* se evaluó al tercer y quinto día después de la inoculación. La evaluación de severidad de la enfermedad consistió en determinar visualmente el área foliar enferma por planta empleando una escala arbitraria en porcentaje del 0 al 100, donde 0 corresponde a una planta sana, sin síntoma alguno, y 100 a una planta totalmente afectada (Fry, 1978).

3.6.2. Registro y análisis de datos

Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC)

El tizón tardío o rancha es una enfermedad policíclica debido a que el agente causal es capaz de reproducirse y re-infectar otras plantas en una misma campaña de cultivo. Para evaluar la resistencia del material genético a esta enfermedad, es recomendable usar el parámetro conocido como Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (ABCPE o AUDPC por sus siglas en inglés). Este parámetro se basa en la sumatoria de los valores de severidad de la enfermedad obtenidos en las diferentes evaluaciones durante el experimento. La ventaja de emplear el AUDPC radica en su simplicidad para ser calculado, pues usa las múltiples evaluaciones y no requiere de ninguna transformación de los datos. Es muy útil al realizar análisis comparativos entre variedades, genotipos o tratamientos en el mismo experimento y campaña de cultivo (Pérez y Forbes 2010).

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

Donde:

n= número total de observaciones,

y=porcentaje de follaje afectado en cada evaluación,

t= días después de la inoculación de cada lectura.

En la interpretación del AUDPC, valores bajos corresponden a individuos resistentes y valores altos a aquellos que resultan susceptibles (Forbes et al. 2014).

Área bajo la curva del progreso de la enfermedad relativo (rAUDPC)

El AUDPC no es un parámetro que deba ser usado para comparar genotipos entre experimentos diferentes. En un esfuerzo de estandarizar el AUDPC, empleamos el rAUDPC, el cual es calculado dividiendo el AUDPC entre el porcentaje de la última evaluación menos el de la última evaluación del área foliar por 100 (Forbes et al. 2014). La evaluación del 100% del área infectada por el tizón tardío tendrá un valor de rAUDPC de 1.0. Todos los valores son expresados como proporción de este valor. Valores bajos de rAUDPC indicarán niveles de infección bajos durante el periodo de evaluación, siendo así variedades resistentes (Pérez y Forbes 2010).

$$rAUDPC = \frac{AUDPC}{((y_n - y_1) * 100)}$$

Donde:

AUDPC: Valor AUDPC del genotipo en estudio.

yn: Porcentaje de la última evaluación del genotipo de interés.

y1: Porcentaje de la primera evaluación del genotipo en estudio.

Escala de susceptibilidad

No existe un sistema estándar para medir el grado de resistencia de un genotipo de papa a *P. infestans*. En el presente trabajo se empleó la escala propuesta por Yuen y Forbes, (2009) que permite asignar un valor dentro la escala de susceptibilidad a partir del rAUDPC. Para poder asignar el valor de la escala de susceptibilidad al genotipo de interés, primero se debió designar un valor alto dentro de la escala (8 o 9) a un cultivar estándar susceptible conocido (por ejemplo, Tomasa, Yungay, entre otros). Este valor designado fue dividido entre el rAUDPC del mismo genotipo estándar susceptible y se obtiene una constante, la cual se multiplicará a cada uno de los valores de rAUDPC de los demás genotipos candidatos consiguiendo así el valor dentro de la escala para cada genotipo.

$$Sx = Dx \left(\frac{Sy}{Dy} \right)$$

Donde:

Sy: Valor de la escala asignado al genotipo estándar susceptible,

Dy: rAUDPC del genotipo estándar susceptible,

Dx: rAUDPC del genotipo de interés.

Para facilitar el análisis dividimos esta escala de susceptibilidad en 3 grupos, el primero agrupa a los genotipos que obtuvieron valores de escala comprendidos entre 0 y 3, en el segundo grupo aquellas genotipos con valores de 3.1 a 6 y en el último grupo a aquellos con valores de escala que entre de 6.1 a 9 o más, puesto que algunas accesiones resultaron aún más susceptibles en comparación con nuestro testigo susceptible Yungay.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

El tiempo y el porcentaje de germinación de las semillas de cada accesión de papa silvestre fue muy variable, así como la adaptación de las plántulas a las condiciones climáticas al momento de realizar la investigación. La dificultad en la aclimatación de estas especies silvestres era un hecho que se esperaba, ya que cada una proviene de un lugar de colección completamente diferente. En lo posible se trató de contar con 100 plantas por accesión para las evaluaciones de resistencia, sin embargo, por las dificultades antes mencionadas, el material disponible para las evaluaciones se vio limitado en algunos casos.

Las evaluaciones de resistencia foliar en las 30 especies de papa silvestre se realizaron en una serie de 9 experimentos continuos, en cada uno se mantuvo similares condiciones de temperatura y humedad dentro del invernadero de inoculación, siendo estas propicias para el desarrollo de la enfermedad. Así mismo, cada experimento contó con la presencia de testigos susceptibles y resistentes para el monitoreo de la efectividad de la inoculación.

4.1. RESISTENCIA AL TIZÓN TARDÍO EN ESPECIES DE PAPA SILVESTRE

Las cuatro variedades mejoradas empleadas como testigos susceptibles y resistentes mostraron durante la serie de experimentos realizados comportamientos muy en línea con la resistencia reportada en diferentes trabajos de investigación (Ñahui, M., 2011; Pérez, W. et al, 2000); estos resultados nos indicaron que existía la suficiente presión de la enfermedad para una confiable caracterización de las accesiones en estudio.

Es así como las variedades Chucmarina y Kawsay obtuvieron valores de susceptibilidad bajos (0.47 y 1.39 respectivamente) dentro de la escala propuesta por Yuen y Forbes (2009) . Por otro lado, la variedad Pallay Poncho obtuvo un valor de escala de 2.59; y por último la variedad Yungay considerada como susceptible alcanzó el máximo valor de la escala propuesta por Yuen y Forbes 2009 como se esperaba (Figura 8).

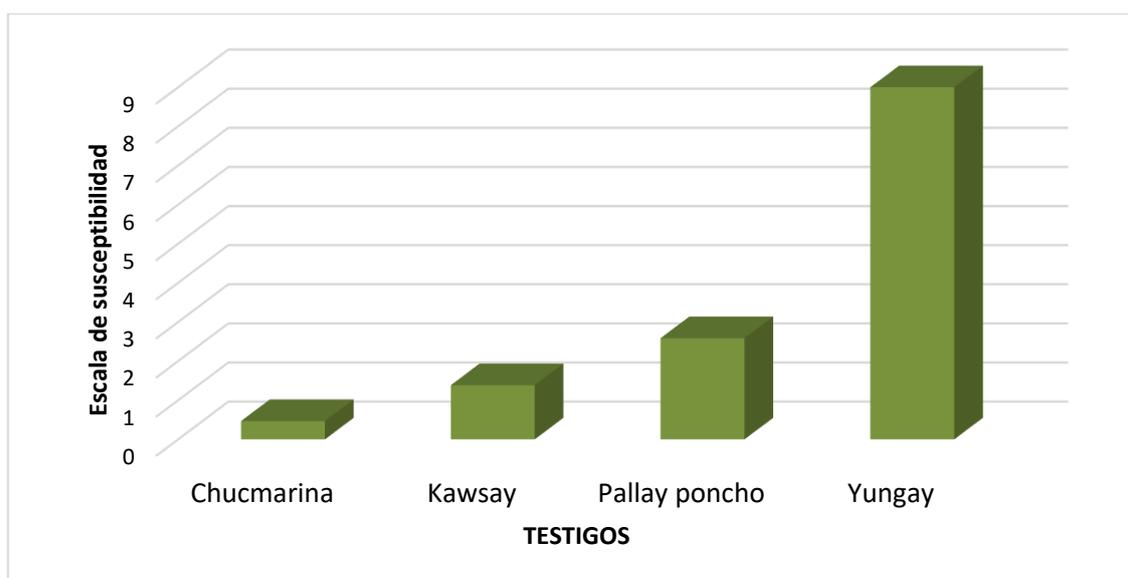


Figura 8: Valores promedio de la escala de susceptibilidad de las variedades mejoradas empleadas como testigo en la investigación.

Tabla 5. Valores de AUDPC, rAUDPC y Escala de Susceptibilidad (Yuen y Forbes, 2009)

Testigo	AUDPC	rAUDPC	Escala de susceptibilidad a rancho
Chucmarina	5.8	0.03	0.47
Kawsay	17.13	0.08	1.39
Pallay poncho	32	0.16	2.59
Yungay	111.33	0.56	9.00

De acuerdo a la metodología propuesta los genotipos fueron ubicados en 3 grupos (Tabla 5). De las 57 accesiones evaluadas en invernadero, 8 accesiones obtuvieron valores de escala menores a 3 en más del 50% de su población evaluada; una accesión presenta valores comprendidos entre 3.1 y 6, y finalmente 48 accesiones obtuvieron valores superiores a 6.1.

Las especies que alcanzaron valores de escala comprendidos entre 0 y 3, mostrando una alta resistencia en la mayoría de sus genotipos son *Solanum albornozi* (CIP761164), *S. andreanum* (CIP763108), *S. lesteri* (CIP764265), *S. longiconicum* (CIP763966), *S. morelliforme* (CIP764271 y CIP764293), *S. stenophyllidium* (CIP763861) y *S. tarnii* (CIP764286).

Accesiones de especies como *Solanum albornozii* (CIP761164), *S. lesteri* (CIP764265) y *S. stenophyllidium* (CIP763861) mostraron que gran parte de sus genotipos obtuvieron valores de escala cercanos a 1 (Tabla 5), similares a los obtenidos por los testigos resistentes Chucmarina y Kawsay, con valores de escala de susceptibilidad 0.47 y 1.39 respectivamente (Figura 8). En trabajos realizados por Kiru et al. (2017) en el Instituto Panruso de la Industria de las Plantas (VIR), las accesiones de *S. albornozii* mostraron resultados muy similares a los obtenidos con la accesión CIP761164 de esta misma especie, lo cual nos indica la alta probabilidad de ser una fuente de resistencia al tizón tardío.

Por otro lado, Rogozina et al. (2010) reportó que *S. stenophyllidium* se comportaba como una especie susceptible al tizón tardío tanto en las pruebas de campo como las de laboratorio, lo cual difiere con nuestros resultados obtenidos con la accesión CIP763861. Una de las razones probables es la existencia de la variabilidad intraespecífica, ya que en el presente trabajo se empleó aleatoriamente 100 genotipos diferentes mientras que en el trabajo publicado por Rogozina et al. (2010) se inocularon clones de un pequeño número de genotipos, además existen diferencias en la metodología empleada, así como en la elección del aislamiento de *P. infestans* escogido para las pruebas.

Desde un punto de vista general la distribución de frecuencias de la mayoría de las accesiones tiende a estar ubicada en el grupo con los valores más altos de susceptibilidad (Anexo 6). Sin embargo, en 7 especies se tuvo al menos 1 una accesión con bajos niveles de susceptibilidad ya que obtuvieron valores de escala similares a las variedades mejoradas Kawsay y Chucmarina, e incluso mucho mejores que Pallas poncho; estas especies fueron *S. albornozii*, *S. andreanum*, *S. lesteri*, *S. longiconicum*, *S. morelliforme*, *S. stenophyllidium* y *S. tarnii* (Figura 9).

Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con lo reportado por Ruiz de Galarreta et al. (1998) en cuanto a la susceptibilidad al tizón tardío de *S. hjertingii*, *S. incamayoense*, *S. kurtzianum*, *S. mochiquense*, *S. neocardenasii*, *S. neorosii*, *S. oxycarpum*, *S. pampasense*, *S. vernei* y *S. violaceimarmoratum*.

Tabla 6. Clasificación de las accesiones de papa silvestre según su valor dentro de la escala de susceptibilidad (Yuen y Forbes 2009).

Especies	CIP No.	No. Ind.	Porcentaje de Genotipos 0 a 3*	Porcentaje de Genotipos 3 a 6*	Porcentaje de Genotipos 6 a más*	Desv. Est. **
<i>S. agrimonifolium</i>	CIP763944	70	0	0	100	1.5
	CIP763946	100	0	0	100	0.88
<i>S. albornozii</i>	CIP761164	100	84	7	9	1.76
	CIP763735	100	32	40	28	2.68
<i>S. ancophilum</i>	CIP761448	100	0	0	100	1.67
	CIP761459	100	0	0	100	0.84
<i>S. andreanum</i>	CIP762677	100	39	22	39	2.78
	CIP763108	100	63	10	27	2.92
<i>S. avilesii</i>	CIP762527	100	11	15	74	2.44
	CIP763012	100	0	0	100	2.3
<i>S. boliviense</i>	CIP760538	100	0	0	100	0.75
	CIP761356	100	0	0	100	0.97
<i>S. chilliasense</i>	CIP761590	40	0	0	100	1.11
	CIP763742	100	0	3	97	1.15
<i>S. colombianum</i>	CIP762812	100	0	4	96	0.97
	CIP763890	50	0	0	100	0.49
<i>S. hjertingii</i>	CIP764288	100	6	16	78	4.21
	CIP764289	90	7	13	80	3.73
<i>S. hoopesii</i>	CIP763015	100	0	0	100	1.89
	CIP763016	100	0	0	100	1.33
<i>S. immite</i>	CIP761040	70	3	1	96	1.9
<i>S. incamayoense</i>	CIP763698	100	0	0	100	0.28
	CIP763702	100	0	0	100	0.6
<i>S. kurtzianum</i>	CIP764233	100	0	15	85	1.18
	CIP764234	60	8	63	28	2.33
<i>S. lesteri</i>	CIP764265	100	94	2	3	1.52
<i>S. longiconicum</i>	CIP763965	100	3	9	88	1.37
	CIP763966	100	62	16	22	2.47

Continuación

Especies	CIP No.	No. Ind.	Porcentaje de Genotipos 0 a 3*	Porcentaje de Genotipos 3.1 a 6*	Porcentaje de Genotipos 6.1 a más*	Desv. Est. **
<i>S. mochiquense</i>	CIP761234	100	1	7	93	1.36
	CIP763002	100	0	0	100	0.58
<i>S. morelliforme</i>	CIP764271	100	50	40	10	1.86
	CIP764293	100	71	15	14	2.59
<i>S. neocardenasii</i>	CIP760429	70	4	27	69	1.96
	CIP764034	100	21	27	52	3.02
<i>S. neorossii</i>	CIP764170	60	0	7	93	0.97
	CIP764172	100	3	13	84	1.81
<i>S. otites</i>	CIP761276	60	0	3	97	1.7
	CIP763948	100	0	0	100	1.74
<i>S. oxycarpum</i>	CIP761931	100	24	17	59	2.99
	CIP763982	100	2	19	79	1.83
<i>S. pampasense</i>	CIP760361	50	0	0	100	0.54
	CIP760362	100	0	0	100	0.98
<i>S. stenophyllidium</i>	CIP761891	80	13	15	73	3.13
	CIP763861	100	71	3	26	3.28
<i>S. tacnaense</i>	CIP761233	40	0	0	100	1.19
<i>S. tarnii</i>	CIP764285	90	25	23	42	2.8
	CIP764286	40	53	17	30	3.25
<i>S. tundalomense</i>	CIP761593	100	0	0	100	1.65
	CIP761606	90	18	3	80	2.84
<i>S. tuquerrense</i>	CIP762711	100	0	0	100	0.5
	CIP763760	30	0	0	100	1.59
<i>S. vernei</i>	CIP763728	90	0	0	100	1.53
	CIP763729	80	0	0	100	1.02
<i>S. vidaurrei</i>	CIP760760	100	0	0	100	0.94
	CIP763137	80	0	0	100	1.35
<i>S. violaceimarmoratum</i>	CIP760330	100	0	0	100	0.85
	CIP761342	100	0	0	100	0.71

*Porcentaje de individuos con los valores dentro la escala de susceptibilidad de Yuen y Forbes (2009).

**Desviación estándar obtenida por accesión.

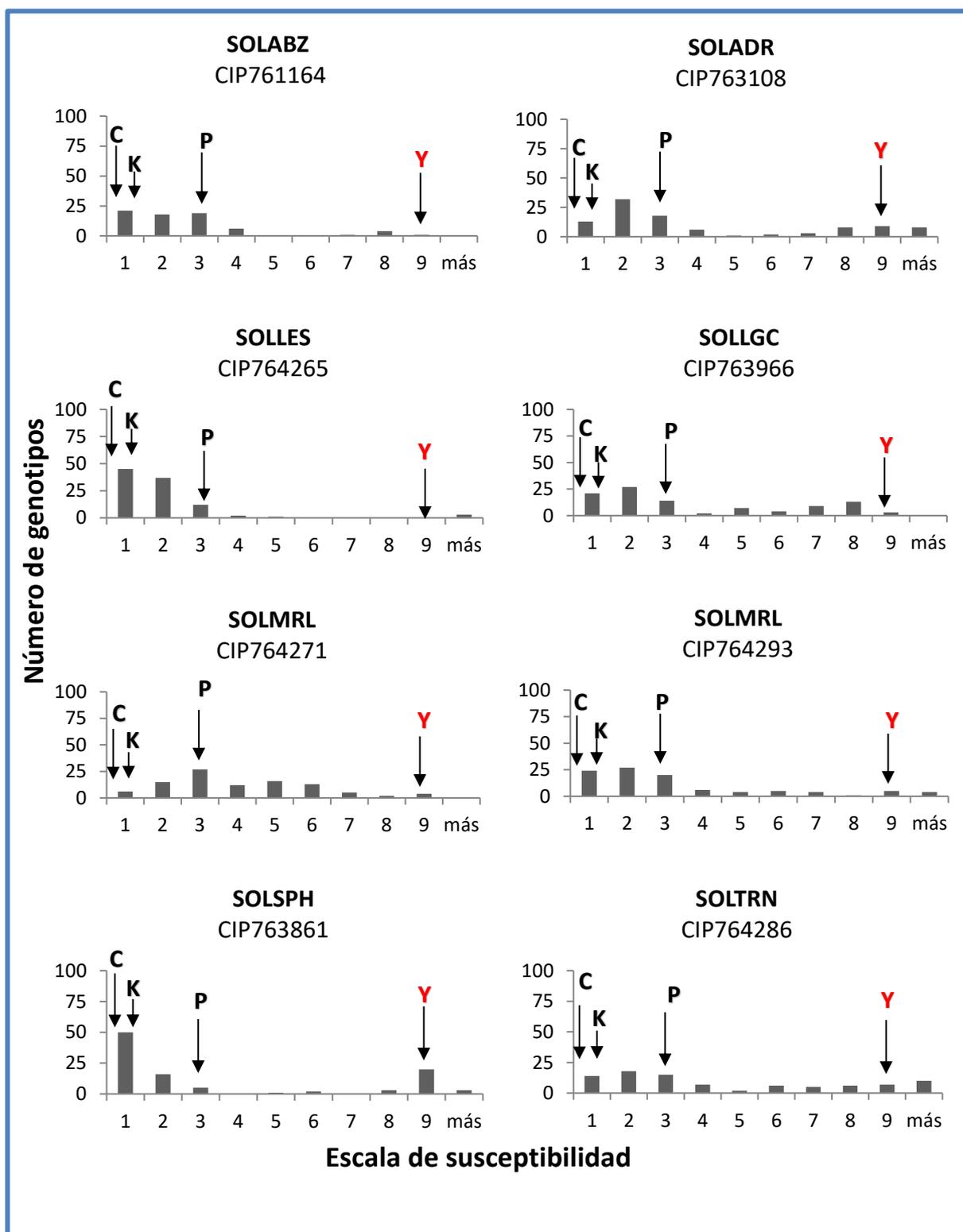


Figura 9: Distribución de frecuencias de las accesiones de papa silvestre resistentes a las pruebas de susceptibilidad a *Phytophthora infestans* en condiciones de invernadero. SOLABZ= *S. albornozi*, SOLADR= *S. andreanum*, SOLLES= *S. lesteri*, SOLLGC= *S. longiconicum*, SOLMRL= *S. morelliforme*, SOLSPH= *S. stenophyllidium*, SOLTRN= *S. tarnii*. Los testigos son indicados por flechas. Variedades testigos: C= Chucmarina, K= Kawsay, P= Pallay poncho y Y= Yungay

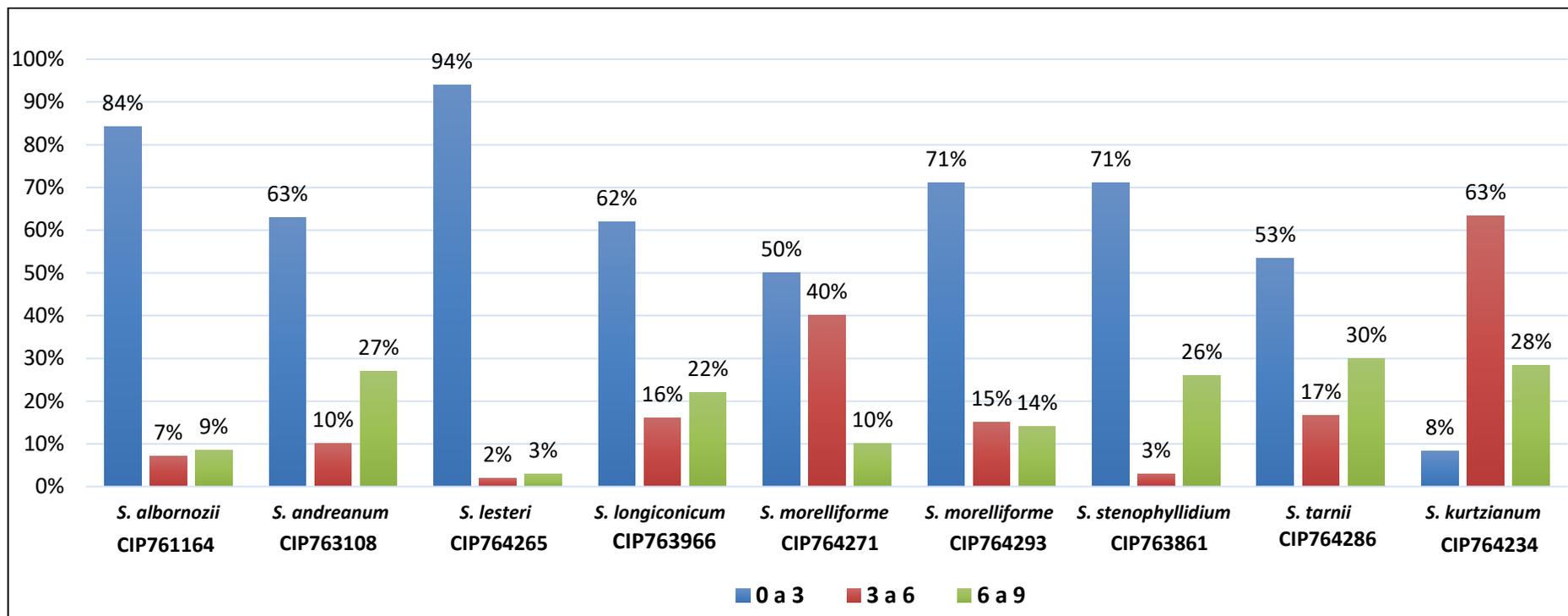


Figura 10. Distribución de la resistencia al tizón tardío en los genotipos de *Solanum* silvestres con respecto a la escala de susceptibilidad propuesta por Yuen and Forbes (2009).

4.2. VARIABILIDAD EN LA RESISTENCIA A *Phytophthora infestans*

La mayoría de las accesiones mostraron variabilidad en sus niveles de resistencia, lo cual se esperaba debido a que todas las plantas se obtuvieron a partir de la germinación de semillas sexuales derivadas de polinización abierta, sib cross o cruzamiento entre líneas consanguíneas o hermanas, y bulk cross, provenientes de un cruzamiento masal o poblacional, lo cual pudo originar poblaciones muy heterogéneas. La variabilidad observada dentro de cada accesión puede ser mejor entendida y demostrada con los valores de la desviación estándar obtenidos los cuales se pueden visualizar en el Tabla 5. Otra fuente importante de variabilidad radica en los diferentes lugares de colección de cada accesión de papa silvestre empleada en esta investigación, por lo que la variación en las respuestas de cada genotipo frente a la enfermedad puede deberse a la presión de los múltiples factores a los que cada material estuvo expuesto en sus diferentes hábitats (Anexo 1) (Pérez et al. 2000).

De las 57 accesiones o familias de plantas evaluadas, 30 mostraron respuestas mixtas, es decir accesiones con genotipos con altos y bajos valores de susceptibilidad, similares a Pallay poncho y Yungay. Las 27 accesiones restantes mostraron respuestas claras y uniformes, todas estas obtuvieron valores superiores a 6.1 dentro de la escala de susceptibilidad en el 100% de sus genotipos. La distribución de las respuestas obtenidas por genotipo puede ser observada a detalle en el Anexo 6. Resultados similares se encontraron en el trabajo realizado por Karki et al (2020) donde se evaluaron 384 accesiones de papa silvestre de 68 especies diferentes, de este gran grupo de accesiones 33 de ellas (8.6%) mostraron esta mezcla de individuos/plantas resistentes y susceptibles dentro de cada accesión.

Dentro del grupo de accesiones con respuestas mixtas, en las accesiones CIP763735 (*S. albornozii*), CIP764234 (*S. kurtzianum*) y CIP764271 (*S. morelliforme*), más del 70% de los genotipos obtuvieron valores de escala que oscilan de 0 a 6, mostrando así que en estas especies también podemos encontrar fuentes de resistencia al tizón tardío.

Se encontró una gran diversidad fenotípica en la respuesta de susceptibilidad de los individuos evaluados, sin embargo las diferencias intra específicas a nivel de accesiones también fueron bien marcadas, especialmente en las especies *S. albornozii*, *S. andreanum*,

S. longiconicum, *S. stenophyllidium* y *S. tarnii*, ya que de las dos accesiones que se probaron por especie, una de ellas mostró un alto número de genotipos con valores bajos de susceptibilidad (más del 80% de la población evaluada), mientras que los genotipos de la otra accesión tenían valores más altos de susceptibilidad incluso superiores a los obtenidos por Yungay (Tabla 5). Esta diversidad intra específica queda evidenciada al contrastar los resultados obtenidos en diferentes trabajos anteriores, donde se hace notoria la presencia de accesiones altamente resistentes y otras extremadamente susceptibles en la especie *Solanum tarnii* (Rogozina et al. 2010; USDA-ARS National Genetic Resources Program, 2014), *S. microduntum*, *S. pinnatisectum* y *S. verrucosum* (Karki et al. 2020). Esto confirma que las respuestas de resistencia pueden variar entre accesiones aun perteneciendo a una misma especie.

Algunas especies han sido descritas previamente como resistentes frente a *P. infestans*, pero aquellas no resultaron resistentes en nuestras evaluaciones. Esto puede deberse a que los aislamientos y la metodología empleada por estos investigadores difieren con lo utilizado en esta investigación. *Solanum immite* es ejemplo de esto, ya que ha sido reportada en dos ocasiones como resistente (Khiutti et al. 2015 y USDA-ARS National Genetic Resources Program, 2014). pero en los resultados encontrados en la presente investigación se pudo observar que resulta muy susceptible al aislamiento POX 067 empleado.

Tabla 7. Especies de papa silvestre cuyas accesiones mostraron variabilidad en la respuesta al tizón tardío

Especies	CIP No.	No. Ind.	Porcentaje	Porcentaje	Porcentaje
			de Genotipos 0 a 3*	de Genotipos 3 a 6*	de Genotipos 6 a más*
<i>S. stenophyllidium</i>	CIP761891	80	13	15	73
	CIP763861	100	71	3	26
<i>S. longiconicum</i>	CIP763965	100	3	9	88
	CIP763966	100	62	16	22
<i>S. albornozii</i>	CIP761164	100	84	7	9
	CIP763735	100	32	40	28
<i>S. tarnii</i>	CIP764285	90	25	23	42
	CIP764286	40	53	17	30

4.3. USO DE LAS ESPECIES SILVESTRES EN EL MEJORAMIENTO

Son muchos los factores que hace a una especie silvestre de papa apropiada para su uso en un programa de mejoramiento, como la factibilidad y facilidad de cruza con las variedades comunes de papa, la heredabilidad de la resistencia que poseen, y el grado de asociación que exista entre las características deseables y no deseables que se pueda encontrar en el proceso de mejoramiento. Si bien el género *Solanum* sección Petota ofrece incontable diversidad genética para el mejoramiento de las papas cultivadas para conferir tanto resistencia específica como no específica (Song et al. 2003), es esencial saber que la capacidad para cruzar estas especies con la papa común (cruzas interespecíficas/interploidías) depende de la compatibilidad en el Balance Numérico del Endospermo (EBN) entre los parentales (Johnston y Hanneman 1980).

Dentro de las especies que resultaron resistentes, son *S. lesteri*, *S. longiconicum*, *S. morelliforme* y *S. tarnii* especies que no tienen un EBN conocido o determinado, por lo que realizar cruzamientos interespecíficos mediante técnicas convencionales de mejoramiento serían poco exitosas. Por ello los métodos de biología molecular permitirían utilizar y transferir aquellas propiedades específicas de los genotipos silvestres de papa (marcadores RFLP o AFLP, manipulación de ploidías, etc.) (Bártová y Bárta 2006).

S. stenophyllidium ($2n=24$, 1EBN), dentro de nuestra investigación tuvo una gran cantidad de genotipos con bajos valores de susceptibilidad, pero se encuentra reproductivamente aislada debido a la incompatibilidad de su EBN con el de las papas cultivadas tanto diploides 2EBN y tetraploides 4EBN.

S. commersonii ($2n=24$, 1EBN) es una especie silvestre de papa con excelentes características de resistencia a bajas temperaturas y aclimatación a climas fríos (Hanneman et al. 1986), pero debido a su EBN se encuentra igualmente aislado reproductivamente como *S. stenophyllidium*, pero estas barreras se lograron superar mediante la manipulación de su ploidía, obteniendo clones tetraploides de *S. commersonii* ($2n=48$, 2EBN), lo que permitió cruzarlos con clones de *S. tuberosum* Grupo Tuberosum, resultando en progenies pentaploides (Carputo et al. 1997, Cardi et al. 1993).

Como se ha ilustrado en párrafos anteriores, existen incontables mecanismos para superar las barreras producidas por el aislamiento reproductivo a raíz de la incompatibilidad del EBN de las especies silvestres con las especies de papa cultivadas. Si bien pueden ser más complejas que los métodos tradicionales de mejoramiento representan recursos necesarios para poder explotar la gran diversidad genética que tiene el género *Solanum*.

V. CONCLUSIONES

- Las especies *Solanum albornozii*, *S. lesteri*, *S. longiconicum*, *S. morelliforme*, *S. stenophyllidium*, *S. andreanum* y *S. tarnii* presentaron niveles prometedores de resistencia a *P. infestans* de acuerdo a la escala de susceptibilidad propuesta por Yuen y Forbes (2009). Estas especies tienen poco o ningún reporte previo similar.
- Las especies de papa silvestre evaluadas presentan una amplia variabilidad intraespecífica ya que dentro de cada accesión se obtuvieron respuestas mixtas al ser expuestas uniformemente a la presión de la enfermedad.
- Las especies *S. lesteri*, *S. longiconicum*, *S. morelliforme*, *S. stenophyllidium* y *S. tarnii* se encuentran reproductivamente aisladas debido a la incompatibilidad de su EBN, sin embargo mediante métodos de biología molecular y manipulación de ploidías pueden superarse estas barreras y explotar estas nuevas fuentes de resistencia al tizón tardío.

VI. RECOMENDACIONES

- Procurar que las plantas a utilizar en los experimentos estén libres de cualquier enfermedad o plaga y sin algún tipo de deficiencia nutricional, ya que puede generar variaciones en la correcta expresión de la resistencia y/o susceptibilidad.
- Se debe procurar que las condiciones ambientales de los ensayos sean estables para lograr mejor expresión de la enfermedad y la respuesta de las plantas ante el patógeno.
- Determinar el patrón de resistencia a *P. infestans* de las especies silvestres de *Solanum* encontradas con bajos niveles de susceptibilidad.
- Continuar con la búsqueda de resistencia a *P. infestans* y otros patógenos en el germoplasma de papa mantenido por el Centro Internacional de la Papa.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, Z.G.; Abad, JA. (1997). Another look at the origin of late blight of potatoes, tomatoes, and pear melon in the andes of South America. *Plant Disease* 81(6): 682-688. doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.6.682>.
- Adler, N.E.; Erselius, L.J.; Chacón, M.G.; Flier, W.G.; Ordoñez, M.E.; Kroon, L.P.; Forbes, G.A. (2004). Genetic diversity of *Phytophthora infestans* sensu lato in Ecuador provides new insight into the origin of this important plant pathogen. *Phytopathology* 94(2):154-162. doi: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.2.154>.
- Agrios, G.N. (2005). *Plant pathology*. 5th ed. Amsterdam ; Boston, Elsevier Academic Press. 922 p.
- Ames, M.; Spooner, D.M. (2008). DNA from herbarium specimens settles a controversy about origins of the European potato. *American Journal of Botany* 95(2):252-257. doi: <https://doi.org/10.3732/ajb.95.2.252>.
- Andrews, J.H.; Tommerup, I.C. (1995). *Advances in plant pathology*. Burlington, Elsevier. Consultado 13 dic. 2018. Recuperado de <http://public.ebib.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=311299>.
- Arora, R.; Sharma, S.; Singh, B.P. (2014). Late blight disease of potato and its management. s.l., s.e., vol.41. 16 p.
- Awan, A.B.; Struchtemeyer, R.A. 1957. The effect of fertilization on the susceptibility of potatoes to late blight. *American Potato Journal* 34(11):315-319. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02855580>.
- Bailon, Y.; Otazu, V. (1992). Aspectos económicos del control de la ranca (*P. infestans*) de la papa en los Andes Centrales Del Perú. *Fitopatología (Perú)* 27(1):154-162.
- Banks, E.; Ontario; Ministry of Agriculture and Food. (2004). *Potato field guide: insects, diseases and defects*. Toronto, Ministry of Agriculture and Food.

- Barquero, M.; Brenes, A.; Gómez, L. (2005). Complejidad fisiológica de *Phytophthora infestans* en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 29(3):21-29
- Bártová, V.; Bárta, J. (2006). Wild Potato Species: Characterization and biological potential for potato breeding. s.l., s.e., vol.43. doi: <https://doi.org/10.17221/2069-CJGPB>.
- Bengtsson, T.; Sveriges lantbruksuniversitet; Institutionen för växtskyddsbiologi. (2013). Boosting potato defence against late blight a study from field to molecule (en línea). Alnarp, Department of Plant Protection Biology, Swedish University of Agricultural Sciences. Consultado 23 mar. 2018. Disponible en <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-e-1601>.
- Black, W.; Gallegly, M.E. 1957. Screening of *Solanum* species for resistance to physiologic races of *Phytophthora infestans*. *American Potato Journal* 34(10):273-281. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02854886>.
- Bradeen, J.M.; Kole, C. (2011). Genetics, genomics and breeding of potato. Boca Raton, FL: CRC Press; Enfield, N.H, Science Publishers, (Genetics, genomics and breeding of crop plants). 296 p.
- Bradshaw, J.E.; Stewart, H.E.; Wastie, R.L.; Dale, M.F.B.; Phillips, M.S. (1995). Use of seedling progeny tests for genetical studies as part of a potato (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*) breeding programme. *Theoretical and Applied Genetics* 90(6). doi: <https://doi.org/10.1007/BF00222029>.
- Brink, R.A.; Cooper, D.C. (1947). The endosperm in seed development. *The Botanical Review* 13(9):479-541. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02861549>.
- Bustamante, N., Pérez, W. and Aragón, L. (2008) Control químico del tizón tardío (*Phytophthora infestans*) de la papa ‘canchan’ en Huasahuasi, Junín. *Fitopatología* 43, 32–40.
- Caligari, P.D.S.; Mackay, G.R.; Stewart, H.E.; Wastie, R.L. (1984). A seedling progeny test for resistance to potato foliage blight (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary). *Potato Research* 27(1):43-50. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02356196>.

- Caligari, P.D.S., Mackay, G.R., Stewart, H.E., Wastie, R.L. (1985). Confirmatory evidence for the efficacy of a seedling progeny test for resistance to potato foliage blight (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary). *Potato Research* 28(4):439-442. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02357519>.
- Cardi, T.; Iannamico, V.; D'Ambrosio, F.; Filippone, E.; Lurquin, P.F. (1993). In vitro regeneration and cytological characterization of shoots from leaf explants of three accessions of *Solanum commersonii*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 34(1):107-114. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00048470>.
- Carputo, D.; Barone, A.; Cardi, T.; Sebastiano, A.; Frusciante, L.; Peloquin, S.J. 1997. Endosperm balance number manipulation for direct in vivo germplasm introgression to potato from a sexually isolated relative (*Solanum commersonii* Dun.). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94(22):12013-12017.
- Carputo, D.; Monti, L.; Werner, J.E.; Frusciante, L. (1999). Uses and usefulness of endosperm balance number: Theoretical and Applied Genetics 98(3-4):478-484. doi: <https://doi.org/10.1007/s001220051095>.
- Chen, Q.; Kawchuk, L.M.; Lynch, D.R.; Goettel, M.S.; Fujimoto, D.K. (2003). Identification of late blight, Colorado potato beetle, and blackleg resistance in three Mexican and two South American wild 2x (1EBN) *Solanum* species. *American Journal of Potato Research* 80(1):9-19. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02854552>.
- Collinge, D.B.; Slusarenko, A.J. (1987). Plant gene expression in response to pathogens. *Plant Molecular Biology* 9(4):389-410. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00014913>.
- Colon, L.T.; Jansen, R.C.; Budding, D.J. (1995). Partial resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in hybrid progenies of four South American *Solanum* species crossed with diploid *S. tuberosum*. *Theoretical and Applied Genetics* 90(5):691-698. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00222135>.
- Cooke, L.R.; Schepers, H.T.A.M.; Hermansen, A.; Bain, R.A.; Bradshaw, N.J.; Ritchie, F.; Shaw, D.S.; Evenhuis, A.; Kessel, G.J.T.; Wander, J.G.N.; Andersson, B.; Hansen, J.G.; Hannukkala, A.; Nærstad, R.; Nielsen, B.J. (2011). *Epidemiology*

- and integrated control of potato late blight in Europe. *Potato Research* 54(2):183-222. doi: <https://doi.org/10.1007/s11540-011-9187-0>.
- De Wit, P.J.G.M. (1997). Pathogen avirulence and plant resistance: a key role for recognition. *Trends in Plant Science* 2(12):452-458. doi: [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)01139-4](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)01139-4).
- Dorado, M. (2014). Variabilidad genética de *Phytophthora infestans* aislado de *Solanum betaceum* en los departamentos de Nariño y Putumayo mediante marcadores microsatélites (en línea). Tesis Profesional para optar el título profesional de Licenciado en Biología. Colombia, Universidad de Nariño. 108 p. Disponible en <http://biblioteca.udenar.edu.co:8085/atenea/biblioteca/90057.pdf>.
- Dutt, B. (1979). Bacterial and fungal diseases of potato (en línea). New Delhi, India, Indian Council of Agricultura Research, (N° 19801369807). 199 p. Disponible en <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19801369807>.
- Egúsqüiza, R.; Apaza, W. (2001). La ranca de la papa (*Phytophthora infestans*) en el Perú. Perfil de País. s.l., s.e.
- Erwin, D.C.; Ribeiro, O.K. (1996). *Phytophthora* diseases worldwide (en línea) . Consultado 14 abr. 2016. Disponible en <http://www.apsnet.org/apsstore/shopapspress/Pages/42120.aspx>.
- Erwin, D.C; Ribeiro, O.K. (1996). *Phytophthora* diseases worldwide. St. Paul, Minn, APS Press. 562 p.
- Flier, W.G.; Grünwald, N.J.; Kroon, L.P.N.M.; Sturbaum, A.K; van den Bosch, T.B.M.; Garay-Serrano, E.; Lozoya-Saldaña, H.; Fry, W.E.; Turkensteen, L.J. (2003). The Population Structure of *Phytophthora infestans* from the Toluca Valley of Central Mexico Suggests Genetic Differentiation Between Populations from Cultivated Potato and Wild *Solanum* spp. *Phytopathology* 93:382-390. doi: <https://doi.org/10.1094/phyto.2003.93.4.382>.
- Flor, H.H. 1971. Current Status of the Gene-For-Gene Concept. *Annual Review of Phytopathology* 9(1):275-296. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev.py.09.090171.001423>.

- Forbes, G.; Pérez, W.; Andrade Piedra. 2014. Field assessment of resistance in potato to *Phytophthora infestans*. (en línea). s.l., International Potato Center (CIP). doi: <https://doi.org/10.4160/9789290604402>.
- 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. doi: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1997.87.4.375>.
- Forbes, G.A.; Morales, J.G.; Restrepo, S.; Pérez, W.; Gamboa, S. (2013). *Phytophthora infestans* and *Phytophthora andina* on Solanaceous hosts in South America. s.l., s.e.
- Fry, W.E. (1978). Quantification of general resistance of potato cultivars and fungicide effects for integrated control of potato late blight. *Phytopathology* 68(11):1650. doi: <https://doi.org/10.1094/Phyto-68-1650>.
- Fry, WE (1993). Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: Chronology, pathways, and implications. *Plant Disease* 77(7):653. doi: <https://doi.org/10.1094/PD-77-0653>.
- Fry, W.E.; Goodwin, S.B. (1997). Re-emergence of potato and tomato late blight in the United States. *Plant Disease* 81(12):1349-1357. doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.12.1349>.
- Garry, G.; Forbes, G. A.; Salas, A.; Pérez, W.; Santa Cruz, M.; Pinedo, H. M.; Gonzales, E.; Rivera, M.; Nelson, R. J. 2001. Characterization of *Phytophthora infestans* colonizing different Solanaceous species in Peru, with implications on the control of potato late blight. In Ferguson, P.; Parrot, S.; Sheridan, K.; Smith, B.; Stares, J. (eds.). Lima - Peru: International Potato Center, s.e. p. 39-47.
- Gavino, P.D.; Fry, W.E. (2002). Diversity in and evidence for selection on the mitochondrial genome of *Phytophthora infestans*. *Mycologia* 94(5):781-793.
- Gomez-Alpizar, L.; Carbone, I.; Ristaino, J.B. (2007). An Andean origin of *Phytophthora infestans* inferred from mitochondrial and nuclear gene genealogies. 104:3306-3311. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0611479104>.

- Goodman, R.N.; Király, Z.; Wood, K.R. (1986). The biochemistry and physiology of plant disease. Columbia, Mo, University of Missouri Press. 433 p.
- Goodwin, S.B.; Cohen, B.A.; Fry, W.E. (1994). Panglobal distribution of a single clonal lineage of the Irish potato famine fungus. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91(24):11591-11595. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.91.24.11591>.
- Goodwin, S.B.; Smart, C.D.; Sandrock, R.W.; Deahl, K.L.; Punja, Z.K.; Fry, W.E. (1998). Genetic change within populations of *Phytophthora infestans* in the United States and Canada during 1994 to 1996: Role of migration and recombination. *Phytopathology* 88(9):939-949.
- Grünwald, N.J.; Flier, W.G. (2005). The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin. *Annual Review of Phytopathology* 43(1):171-190. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.135906>.
- de Haan, S. (2012). Catalogo de nuevas variedades de papa: Sabores y colores para el gusto peruano (en línea). s.l., Centro Internacional de la Papa (CIP). Consultado 6 oct. 2016. Disponible en <http://cipotato.org/publications/pdf/005909.pdf>.
- Hammer, K.; Arrowsmith, N.; Gladis, T. (2003). Agrobiodiversity with emphasis on plant genetic resources. *Naturwissenschaften* 90(6):241-250. doi: <https://doi.org/10.1007/s00114-003-0433-4>.
- Hammond-Kosack, K.E. (1996). Resistance Gene-Dependent plant defense responses. *The plant cell* (Online) 8(10):1773-1791. doi: <https://doi.org/10.1105/tpc.8.10.1773>.
- Hammond-Kosack, K.E; Jones, J.D.G. (1997). Plant disease resistance genes. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48(1):575-607. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.48.1.575>.
- Hanneman, R.E. 1994. Assignment of Endosperm Balance Numbers to the tuber-bearing *Solanum* and their close non-tuber-bearing relatives. *Euphytica* 74(1-2):19-25. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00033762>.
- Hanneman, RE; Bamberg, JB; University of Wisconsin--Madison. 1986. Inventory of tuber-bearing *Solanum* species (en línea). Madison, University of Wisconsin,

- (Bulletin. Agricultural Experiment Station, University of Wisconsin.533, no. 216 p.). 216 p. Disponible en <https://catalog.hathitrust.org/Record/005894797>.
- Harlan, J.R; de Wet, J.M.J. (1971). Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon* 20(4):509. doi: <https://doi.org/10.2307/1218252>.
- Hawkes, J.G. (1990). The potato: evolution, biodiversity and genetic resources. London, Belhaven. 259 p.
- Hawkes, J.G; Francisco-Ortega, J. (1993). The early history of the potato in Europe. *Euphytica* 70(1-2):1-7. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00029633>.
- Henfling, J. (1987). Late blight of potato. *Phytophthora infestans*. s.l., s.e.
- Hijmans, R.J. ed. (2002). Atlas of wild potatoes. Rome, IPGRI, (Systematic and ecogeographic studies on crop gene pools, no. 10). 130 p.
- Hijmans, R.J; Spooner, D.M. (2001). Geographic distribution of wild potato species. *American Journal of Botany* 88(11):2101. doi: <https://doi.org/10.2307/3558435>.
- Hooker, W.J; American Phytopathological Society; Potato Association of America. eds. (1981). Compendium of potato diseases. St. Paul, Minn, American Phytopathological Society, (Disease compendia series). 125 p.
- Ingram, D. S.; Williams, P.H. (1991). *Phytophthora infestans* : the cause of late blight of potato. Academic Press, London). 273 p.
- INTEROC. Columbus, ficha técnica. Visto en línea: <http://interoc-custer.com/wp-content/uploads/2015/07/Columbus.pdf> .
- Jansky, S. (2009). Breeding, genetics, and cultivar development (en línea). s.l., Elsevier. p. 27-62 doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374349-7.00002-7>.
- Johnston, S.A.; Hanneman, R.E. (1980). Support of the endosperm balance number hypothesis utilizing some tuber-bearing *Solanum* species. *American Potato Journal* 57(1):7-14. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02852750>.
- Johnston, S.A.; den Nijs, T.P.M.; Peloquin, S.J.; Hanneman, R.E. (1980). The significance of genic balance to endosperm development in interspecific crosses.

- Theoretical and Applied Genetics 57(1):5-9. doi:
<https://doi.org/10.1007/BF00276002>.
- Judelson, H.S.; Blanco, F.A. (2005). The spores of *Phytophthora*: weapons of the plant destroyer. Nature Reviews Microbiology 3(1):47-58. doi:
<https://doi.org/10.1038/nrmicro1064>.
- Katsiotis, A.; Hanneman, R.E.; Forsberg, R.A. (1995). Endosperm Balance Number and the polar-nuclei activation hypotheses for endosperm development in interspecific crosses of Solanaceae and Gramineae, respectively (en línea). Theoretical and Applied Genetics 91-91(6-7). doi:
<https://doi.org/10.1007/BF00223891>.
- Keen, N.T. (1990). Gene-for-gene complementarity in plant-pathogen interactions. Annual Review of Genetics 24:447-463. doi:
<https://doi.org/10.1146/annurev.ge.24.120190.002311>.
- Khiutti, A.; Spooner, D.M.; Jansky, S.H.; Halterman, D.A. (2015). Testing Taxonomic Predictivity of Foliar and Tuber Resistance to *Phytophthora infestans* in Wild Relatives of Potato. Phytopathology 105(9):1198-1205. doi:
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-15-0046-R>.
- Kiru, S.; Gavrilenko, T.A.; Kostina, L.I.; Rogozin, E.V.; Antonov, O.; Truskinov, E.; Shvachko, N.; Krylova, E.; Smirnov, A. (2007). Conservation, evaluation and use in breeding of potato genetic diversity at the N.I. Vavilov Institute of Plant Industry (VIR) s.l., s.e.
- Kombrink, E.; Somssich, I.E. (1995). Defense responses of plants to pathogens (en línea). s.l., Elsevier, vol.21. p. 1-34 doi: [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(08\)60007-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(08)60007-5).
- Kromann, P.; Taïpe, A.; Pérez, W.G.; Forbes, G.A. (2009). Rainfall thresholds as support for timing fungicide applications in the control of potato late blight in Ecuador and Peru. Plant Disease 93(2):142-148. doi:
<https://doi.org/10.1094/PDIS-93-2-0142>.

- Kubicki, M.; Lamshöft, M.; Andreas, L. & Spiteller, M. (2018). Metabolism and spatial distribution of metalaxyl in tomato plants grown under hydroponic conditions. *Chemosphere*. 218. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.11.069.
- Lamb, C.J.; Bell, J.N.; Cramer, C.C.; Dildine, S.L.; Grand, C.; Hedrick, S.A.; Ryder, T.B.; Showalter, A.M. (1986). Molecular response of plants to infection (en línea). In Augustine, PC; Danforth, HD; Bakst, MR (eds.). Dordrecht, Springer Netherlands. p. 237-251 doi: https://doi.org/10.1007/978-94-009-4396-4_18.
- Lambers, H.; Chapin, F.S.; Pons, T.L. (1998). *Plant physiological ecology*. New York, Springer. 540 p.
- Large, E.C. (1940). *The advance of the fungi*. New York, Dover.
- Lee, S.; Whitaker, V.M.; Hutton, S.F. (2016). Mini Review: Potential applications of non-host resistance for crop improvement (en línea). *Frontiers in Plant Science* 7. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00997>.
- Lowings, P.H; Garcia Acha, I. (1959). Some factors affecting growth of *Phytophthora infestans* (mont.) de Bary. *Transactions of the British Mycological Society* 42(4):491-501. doi: [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(59\)80051-6](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(59)80051-6).
- Madriz-Ordeñana, K. (2002). Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. *Manejo Integrado de Plagas* 63:22-32.
- 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(2):199-203. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00022324>.
- Matson, M.E.H.; Small, I.M.; Fry, W.E.; Judelson, H.S. (2015). Metalaxyl resistance in *Phytophthora infestans* : Assessing Role of RPA190 Gene and Diversity Within Clonal Lineages. *Phytopathology* 105(12):1594-1600. doi: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-15-0129-R>.
- MINAGRI. 2017. Papa: características de la Producción Nacional y de la comercialización en Lima Metropolitana. Disponible en Línea: <http://www.minagri.gob.pe/portal/analisis-economico/analisis-2017?download=11225:boletin-de-produccion-nacional-de-papa>

http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/inia/512/1/Trip-Papa_INIA321.pdf PAPA kawsay.

Morales, R.A. (1998). Correlación entre las pruebas de invernadero y campo para evaluar la resistencia horizontal a *Phytophthora infestans* en progenies segregantes de papa. UNALM. (tesis de maestría). 149 p.

Muhinyuza, J.B.; Kirk, W.W.; Hammerschmidt, R.; Douches, D.S. (2004). Impact of plant age and leaf position on susceptibility to late blight. Proceedings APA Congress :314-326.

Mulder, A.; Turkensteen, L.J.; Delleman, J. eds. (2005). Potato diseases: diseases, pests and defects. Den Haag, NIVAP. 280 p.

Niederhauser, J.; Mills, W.R. (1953). Resistance of *Solanum* species to *Phytophthora infestans* in Mexico. 43:456-457.

Nowicki, M.; Foolad, M.R.; Nowakowska, M.; Kozik, E.U. (2012). Potato and tomato late blight caused by *Phytophthora infestans*: An Overview of Pathology and Resistance Breeding. Plant Disease 96(1):4-17. doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-11-0458>.

Ochoa, C.M. (1999). Las papas de Sudamérica. Perú. Lima, Centro Internacional de la Papa. 1 p.

Ordoñez, M.E.; Hohl, H.R.; Velasco, J.A.; Ramon, M.P.; Oyarzun, P.J.; Smart, C.D.; Fry, W.E.; Forbes, G.A.; Erselius, L.J. (2000). A novel population of *Phytophthora*, similar to *p. infestans*, attacks wild *Solanum* species in Ecuador. Phytopathology 90(2):197-202. doi: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.2.197>.

Ortiz, R. (2001). The state of the use of potato genetic diversity. (en línea). In Cooper, HD; Spillane, C; Hodgkin, T (eds.). Wallingford, CABI. p. 181-200 doi: <https://doi.org/10.1079/9780851994116.0181>.

Ortiz, R.; Ehlenfeldt, M. (1992). The importance of Endosperm Balance Number in potato breeding and the evolution of tuber-bearing *Solanum* species. s.l., s.e., vol.60. 105 p. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00029665>.

- Ortiz, O., Winters, P.; Fano, H. (1999). La percepción de los agricultores sobre el problema del tizón tardío o rancho
- Pérez, W.G.; Forbes, G. (2010). Potato late blight: Technical manual. s.l., International Potato Center.
- Pérez, W.G.; Lara, J.; Forbes, G.A. (2009). Resistance to metalaxyl-M and cymoxanil in a dominant clonal lineage of *Phytophthora infestans* in Huánuco, Peru, an area of continuous potato production. *European Journal of Plant Pathology* 125(1):87-95. doi: <https://doi.org/10.1007/s10658-009-9461-z>.
- Pérez, W.G.; Salas, A.; Raymundo, R.; Huamán, Z.; Nelson, R.; Bonierbale, M. (2000). Evaluation of wild potato species for resistance to late blight (En 00021). .
- Pérez, W.G.; Gamboa, J.S.; Falcon, Y.V.; Coca, M.; Raymundo, R.M.; Nelson, R.J. (2001). Genetic structure of peruvian populations of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 91(10):956-965. doi: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2001.91.10.956>.
- Perfect, S.E.; Green, J.R. (2001). Infection structures of biotrophic and hemibiotrophic fungal plant pathogens. *Molecular Plant Pathology* 2(2):101-108.
- PPDB: Pesticide Properties DataBase. 2020. Revisado en línea el 03/05/2020 en: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/445.htm>
- Pieterse, C.M.; van Wees, S.C.; van Pelt, J.A.; Knoester, M.; Laan, R.; Gerrits, H.; Weisbeek, P.J.; van Loon, L.C. (1998). A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in Arabidopsis. *The Plant Cell* 10(9):1571-1580.
- Pradel, W., Hareau, G., Quintanilla, L., Suárez, V. (2017). Adopción e impacto de variedades mejoradas de papa en el Perú: Resultado de una encuesta a nivel nacional (2013). (en línea). s.l., International Potato Center doi: <https://doi.org/10.4160/9789290602118>.
- Rich, AE. 1983. Potato diseases. New York, Academic Press. 238 p.
- Rogozina, E.; Kuznetsova, M.; Patrikeyeva, M.; Spiglazova, S.; Smetanina, T.; Semenova, N.; Deahl, K. (2010). Late blight-resistant tuber-bearing *Solanum* species in field and laboratory trials. s.l., s.e.

- Romero Montes, G., Lozoya Saldaña, H., Mora Aguilera, G., Fernández Pavia, S., & Grünwald, Niklaus J. (2012). Rendimiento de papa en función de epidemia por tizón tardío (*Phytophthora infestans* Mont. de Bary). *Revista fitotecnia mexicana*, 35(1), 69-78. Recuperado en 11 de abril de 2020, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802012000100010&lng=es&tlng=es.
- Ross, H.; Hunnius, W. (1986). *Potato breeding: problems and perspectives*. Berlin, Parey, (Fortschritte der Pflanzenzüchtung, no. 13). 132 p.
- Ruiz de Galarreta, J.I.; Carrasco, A.; Salazar, A.; Barrena, I.; Iturritxa, E.; Marquinez, R.; Legorburu, F.J.; Ritter, E. (1998). Wild *Solanum* species as resistance sources against different pathogens of potato. *Potato Research* 41(1):57-68. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02360262>.
- Runno-Paurson, E.; Fry, W.E.; Rimmel, T.; Mand, M.; Myers, K.L. (2010). Phenotypic And Genotypic Characterisation Of Estonian Isolates Of *Phytophthora infestans* In 2004-2007. *Journal Of Plant Pathology* 92:375-384.
- Savazzini, F. (2015). Phenotypic and genotypic characterization of Italian *Phytophthora infestans* isolates. s.l., s.e.
- Schmitthenner, AF. (2000). *Phytophthora* rot of soybean. *Plant Health Progress* 1(1):13. doi: <https://doi.org/10.1094/PHP-2000-0601-01-HM>.
- Schumann, G.L.; D'Arcy, C.J. (2000). Late blight of potato and tomato. *The Plant Health Instructor* . doi: <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2000-0724-01>.
- Song, J.; Bradeen, J.M.; Naess, S.K.; Raasch, J.A.; Wielgus, S.M.; Haberlach, G.T.; Liu, J.; Kuang, H.; Austin-Phillips, S.; Buell, C.R.; Helgeson, J.P.; Jiang, J. (2003). Gene RB cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100(16):9128-9133. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1533501100>.
- Sood, S., Bhardwaj, V., Pandey, S. K., & Chakrabarti, S. K. (2017). History of Potato Breeding: Improvement, Diversification, and Diversity. *The Potato Genome*, 31–72. doi:10.1007/978-3-319-66135-3_3

- Spooner, D.M.; McLean, K.; Ramsay, G.; Waugh, R.; Bryan, G.J. (2005). A single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length polymorphism genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102(41):14694-14699. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0507400102>.
- Spooner; D.M; Hettterscheid, W.L.A. (2007). *Origins, Evolution, and Group Classification of Cultivated Potatoes*. s.l., Unpublished. doi: <https://doi.org/10.13140/2.1.4715.3601>.
- Sujkowski, L.S. (1994). Increased genotypic diversity via migration and possible occurrence of sexual reproduction of *Phytophthora infestans* in Poland. *Phytopathology* 84(2):201. doi: <https://doi.org/10.1094/Phyto-84-201>.
- Tooley, P.W. (1989). Mating type, race composition, nuclear dna content, and isozyme analysis of Peruvian isolates of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 79(4):478. doi: <https://doi.org/10.1094/Phyto-79-478>.
- Torres, H. (2002). *Manual de las enfermedades más importantes de la papa en el Perú*. Lima, Peru, Centro Internacional de la Papa.
- Toxopeus, H.J. (1964). *Treasure-digging for blight resistance in potatoes*. s.l., s.e., vol.13. 206 p. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00023099>.
- Toxopeus, H.J. (1958). Some notes on the relations between field resistance to *Phytophthora infestans* in leaves and tubers and ripening time in *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*. *Euphytica* 7(2):123-130. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00035725>.
- Trognitz, B.R.; Bonierbale, M.; Landeo, J.A.; Forbes, G.; Bradshaw, J.E.; Mackay, G.R.; Waugh, R.; Huarte, M.A.; Colon, L. (2001). Improving potato resistance disease under the global initiative on late blight. (en línea). In Cooper, HD; Spillane, C; Hodgkin, T (eds.). Wallingford, CABI. p. 385-398 doi: <https://doi.org/10.1079/9780851994116.0385>.
- Turkensteen, L.J. (1993). Durable resistance of potatoes against *Phytophthora infestans* (en línea). In Jacobs, T; Parlevliet, JE (eds.). Dordrecht, Springer Netherlands, vol.18. p. 115-124 doi: https://doi.org/10.1007/978-94-011-2004-3_9.

- USDA-ARS National Genetic Resources Program (2014). Germplasm Resources Information Network (GRIN). National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, MD.
- Van der Plank, J.E. (1963). Plant diseases: epidemics and control (en línea). s.l., s.e. Consultado 22 mar. 2018. Disponible en <http://public.ebib.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=1837420>.
- Villamon, F.G.; Spooner, D.M.; Orrillo, M.; Mihovilovich, E.; Pérez, W.; Bonierbale, M. (2005). Late blight resistance linkages in a novel cross of the wild potato species *Solanum paucissectum* (series Piurana). Theoretical and Applied Genetics 111(6):1201-1214. doi: <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0053-9>.
- 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. doi: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.6.666>.
- Vleeshouwers, V.G.A.A.; van Dooijeweert, W.; Govers, F.; Kamoun, S.; Colon, L.T. (2000). The hypersensitive response is associated with host and nonhost resistance to *Phytophthora infestans*. Planta 210(6):853-864. doi: <https://doi.org/10.1007/s004250050690>.
- Wastie, R.L. (1991). Breeding for resistance. 7:193-223.
- Western, J.H. (1972). Diseases of crop plants. New York, Halsted Press Division, Wiley. 404 p.
- Yang, L.; Wang, D.; Xu, Y.; Zhao, H.; Wang, L.; Cao, X.; Chen, Y.; Chen, Q. (2017). A New resistance gene against potato late blight originating from *Solanum pinnatisectum* located on potato chromosome 7 (en línea). Frontiers in Plant Science 8. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01729>.
- Yuen, J.E.; Forbes, G.A. (2009). Estimating the level of susceptibility to *Phytophthora infestans* in potato genotypes. Phytopathology 99(6):782-786. doi: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-6-0782>.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Lugares de colección de las accesiones silvestres de papa.

NCIP	NCOLT	NC	Sps	LOCALIDAD	Longitud del lugar de colección	Latitud del lugar de colección	Elevación del lugar de colección	PAIS
CIP 761164	OCHS 11007	24	abz	k 15 Loja Catamayo	-79.2167	-4	2159	ECU
CIP 763735	SCL 5033	24	abz	Duraznillo, cerca 2k	-79.3475	-3.9647	2159	ECU
CIP 761448	OCH 12086	24	acp	Llanganuco	-77.6519	-9.0794	3908	PER
CIP 761459	OCH 12099	24	acp	Quebrada Chorten	-77.8836	-8.5075	3300	PER
CIP 762677	CCC 5142	24	adr	Sibundoy	-76.9561	1.2192	2086	COL
CIP 763108	HAW 2546	24	adr	Valle de Sibundoy, 1.5 k de Santiago ruta a Colón	-76.8558	2.385	2086	COL
CIP 763944	SHGF 4208	48	agf	Motozintla de Mendoza, ruta Siltepec	-92.2833	15.3667	2005	MEX
CIP 763946	SHGF 4227	48	agf	Tzontehuitz, ruta San Cristobal de las Casas	-92.2833	16.3333	1444	MEX
CIP 762527	HHA 6519	24	avl	Agua de Oro	-64.1069	-18.4897	2650	BOL
CIP 763012	HHA 6522	24	avl	28 k, Valle GrandePucará	-64.1069	-18.4897	2017	BOL
CIP 760538	HAM 206	24	blv	Betanzos Esquire	-65.4533	-19.5506	3324	BOL
CIP 761356	OCH 11938	24	blv	Cerca Guerra Loma	-65.2592	-19.0431	3133	BOL
CIP 761590	OCH 13350	24	chl	Burro Urco y Chilola, Cordillera Chilla	-79.6167	-3.5333	2315	ECU
CIP 763742	SCL 5057	24	chl	Cerro Zarayuntha	-79.5833	-3.5	3284	ECU
CIP 762812	SLY 5139	48	col	Cerro Carshau	-78.8881	-2.4322	3500	ECU
CIP 763890	CCC 5145	48	col	Pasto	-77.2667	1.2167	2621	COL

Continuación.

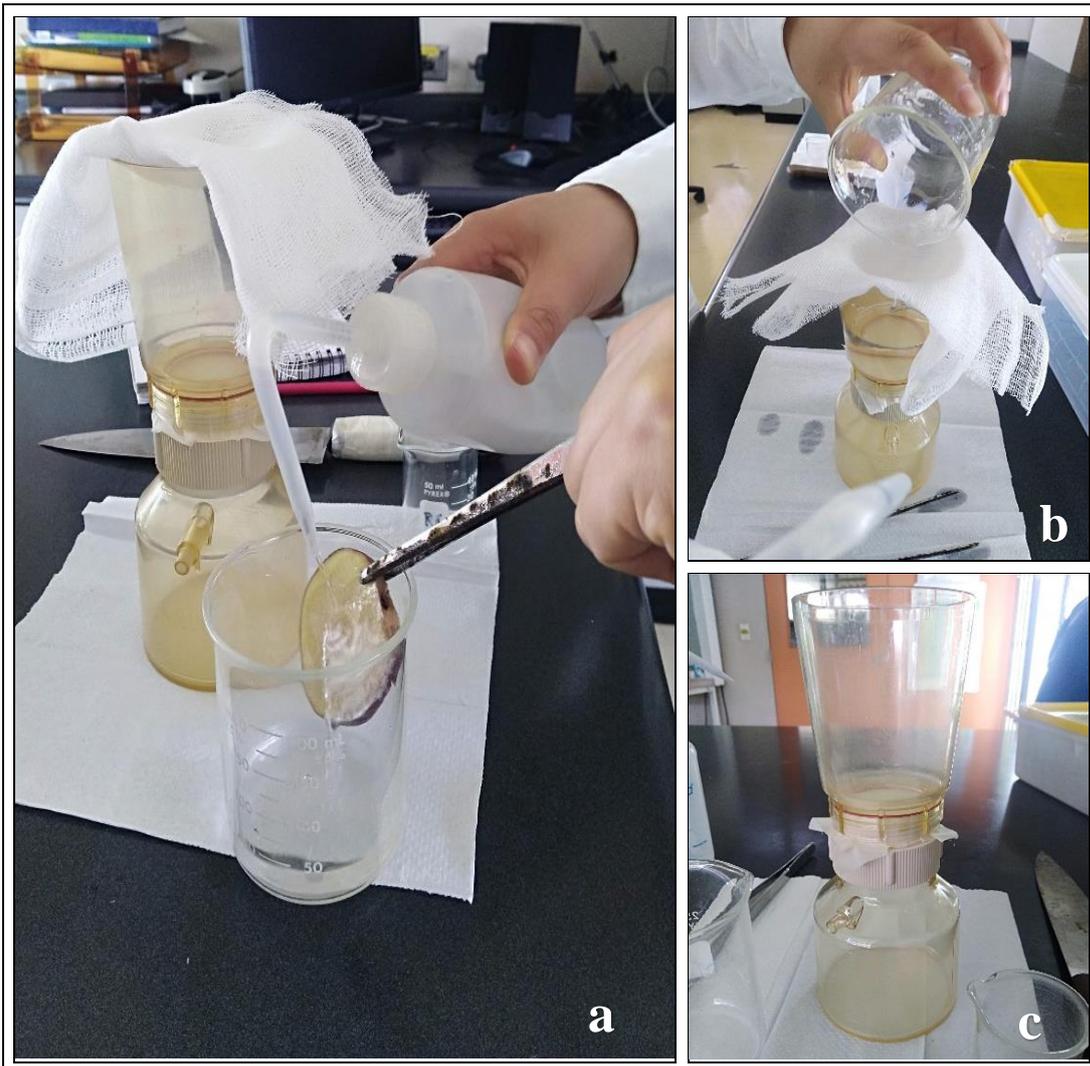
NCIP	NCOLT	NC	Sps	LOCALIDAD	Longitud del lugar de colección	Latitud del lugar de colección	Elevación del lugar de colección	PAIS
CIP 764288	TRHRG 158	24	hjt	Camino a Sierra Hermosa, 29 k Saltillo	-101.0022	25.415		MEX
CIP 764289	TRHRG 160	48	hjt	Los Lirios, Saltillo a Allende 50 k, 700 m al S	-100.6333	25.3667		MEX
CIP 763015	HAO 160	48	hps	Cruz Kassa, 5k antes	-64.5333	-19.9	2863	BOL
CIP 763016	HAO 161b	48	hps	Torrepanpa	-64.4167	-20.1	2497	BOL
CIP 761040	OCH 11689	24	imt	Cotup	-77.8597	-9.4903	2327	PER
CIP 762059	OCHS 14491	24	imt	Quebrada Pichullo, arriba de Casmiche	-78.6358	-8.0328	2100	PER
CIP 763698	OKA 4853	24	inm	Quebrada El Toro, El Golgota	-65.7167	-24.8333	2314	ARG
CIP 763702	OKA 4894	24	inm	Chorrillos Kilómetro 49	-64.8203	-24.2967		ARG
CIP 764233	OKA 4940	24	ktz	Cuesta de Belen, 29 k E de Belen	-66.7667	-27.7833		ARG
CIP 764234	OKA 4962	24	ktz	Cuesta Capitillas	-66.3722	-27.3503		ARG
CIP 764265	SHGRF 4155	24	les	San Juan Teposcolula al Sur	-97.4333	17.55		MEX
CIP 764266	SHGRF 4177	24	les	Miahuatlan de Porfirio Diaz	-96.5333	16.2167		MEX
CIP 763965	BRE 0303131	48	lgc	Parque de Tapanti	-83.7586	9.6883	1695	CRI
CIP 763966	BRE 0303133	48	lgc	Volcan Barva	-84.1225	10.1317	2675	CRI
CIP 761234	OCHS 11613	24	mcq	Amanguay, cerca Moyano	-6.2689	-79.4078	1649	PER
CIP 763002	OCHS 16232	24	mcq	San Benito	-78.7369	-7.3339	1420	PER
CIP 764271	SMHV 7030	24	mrl	San Rafael, SO de Tacana	-92.1167	15.1333		GTM
CIP 764293	TRHRG 281	24	mrl	San Cristobal de Las Casas a Comitán, camino Laguna Chamula	-92.3167	16.5		MEX
CIP 760429	HHH 6496	24	ncd	Mataral	-64.1069	-18.4897	2017	BOL
CIP 764034	NEO 16	24	ncd	sd	-64.1514	-18.3058		BOL
CIP 764170	HHR 3873	24	nrs	Rodeopampa, 13 k Santa Victoria camino La Quiaca	-65.0667	-22.25		ARG
CIP 764172	HOFF 1875	24	nrs	Santa Victoria, 13 k O	-66.0833	-23.25		ARG

Continuación.

NCIP	NCOLT	NC	Sps	LOCALIDAD	Longitud del lugar de colección	Latitud del lugar de colección	Elevación del lugar de colección	PAIS
CIP 761276	OCH 11779	48	oti	Mucubaji	-70.8297	8.7842	3400	VEN
CIP 763948	SVR 6315	48	oti	10 k N San Jose de Bolivar, camino La Grita; 1.6 k N Quebrada Blanca	-71.9883	8.0122	2541	VEN
CIP 761931	OCH 14213	48	oxc	La Joya, ruta de JalapaLa Joya	-95.9867	18.5903	2181	MEX
CIP 763982	RSSV 961	48	oxc	Motozintla, camino a El Porvenir 50 m W	-92.1667	15.4	2410	MEX
CIP 760361	HHCH 5229	24	pam	Cerca Rio Pampas, 12 km below Chincheros.	-74.11	-13.5997	2600	PER
CIP 760362	HHCH 5230	24	pam	7 km from Rio Pampas bridge.	-74.11	-13.5997	2400	PER
CIP 761891	OCH 14149	24	sph	Cerro Vicente Guerrero	-99.2308	19.0075		MEX
CIP 763861	TRHRG 219	24	sph	33 k Aguascalientes, 8.2 k Milpillas de Arriba a Potrero	-102.5833	21.95		MEX
CIP 761233	OCH 11612	24	tcn	Cuajone, 15 k al noreste de Torata	-70.8178	-17.0017	3189	PER
CIP 762988	OCH 5061	24	tcn	Cuesta Liquirca	-71.8036	-16.0842	3251	PER
CIP 761593	OCH 13366	72	tnd	Montes de Burgay	-78.9022	-2.7019	2356	ECU
CIP 761606	OCH 13396	72	tnd	Barriuca, entre Zimbagua y Pilalo	-78.4228	-1.4214	3400	ECU
CIP 764285	TRHRG 56	24	trn	Huayacocotla 14 k S, cerca Viborillas, camino Talancingo	-98.4833	20.55		MEX
CIP 764286	TRHRG 57	24	trn	Huayacocotla 28 k S, Agua Blanca	-98.4828	20.3169		MEX
CIP 762711	HAW 2547	48	tuq	Tuquerres Pasto	-77.6	1.0833	2973	COL
CIP 763760	SCL 5111	48	tuq	El Olivo	-78.0906	-0.3611	3450	ECU
CIP 760760	HOFF 1725	24	vid	Rio Nazareno	-65.1167	-22.5	3390	ARG
CIP 763137	HOFF 1704	24	vid	Chiyuyoo	-65.2	-22.7167	3606	ARG
CIP 760330	HCH 5040	24	vio	6 km from Unduavi to Coroico.	-67.9	-16.3167	3222	BOL
CIP 761342	OCHS 11901	24	vio	Caspichaca, a 5 k de Chulina, MataroChulina	-68.9667	-15.1667	3050	BOL
CIP 763728	OKA 7614	24	vrn	OlladasAbra Colorada	-65.3667	-23.2333	2978	ARG
CIP 763729	OKA 7635	24	vrn	El Remate,ca S Cruz	-65.0333	-22.15	3003	ARG

Fuente: Departamento de recursos genéticos del Centro Internacional de la Papa.

Anexo 2: Obtención del inóculo de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. a. Colecta de micelio y esporangios. b y c. Separación del micelio y esporangios.



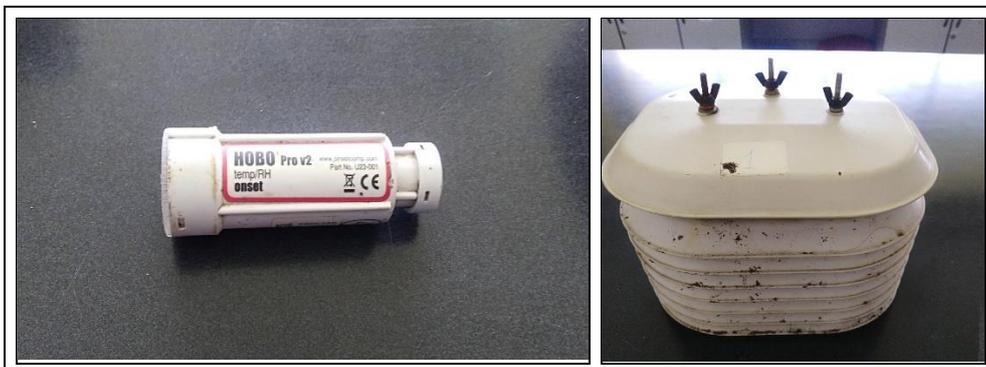
Anexo 3: Invernadero de inoculación. a y b. Estructura de la cámara de inoculación automatizada. c. Plantas inoculadas.



Anexo 4: Reacción de las accesiones de papa silvestre al aislamiento POX067 de *Phytophthora infestans*. a. Manchas necróticas en *S. colombianum* (CIP763890). b. Signo de tizón tardío en *S. vidaurrei* (CIP760760). c y d. Puntos necróticos (resistencia vertical) en *S. hjertingii* y *S. mochiquense*.



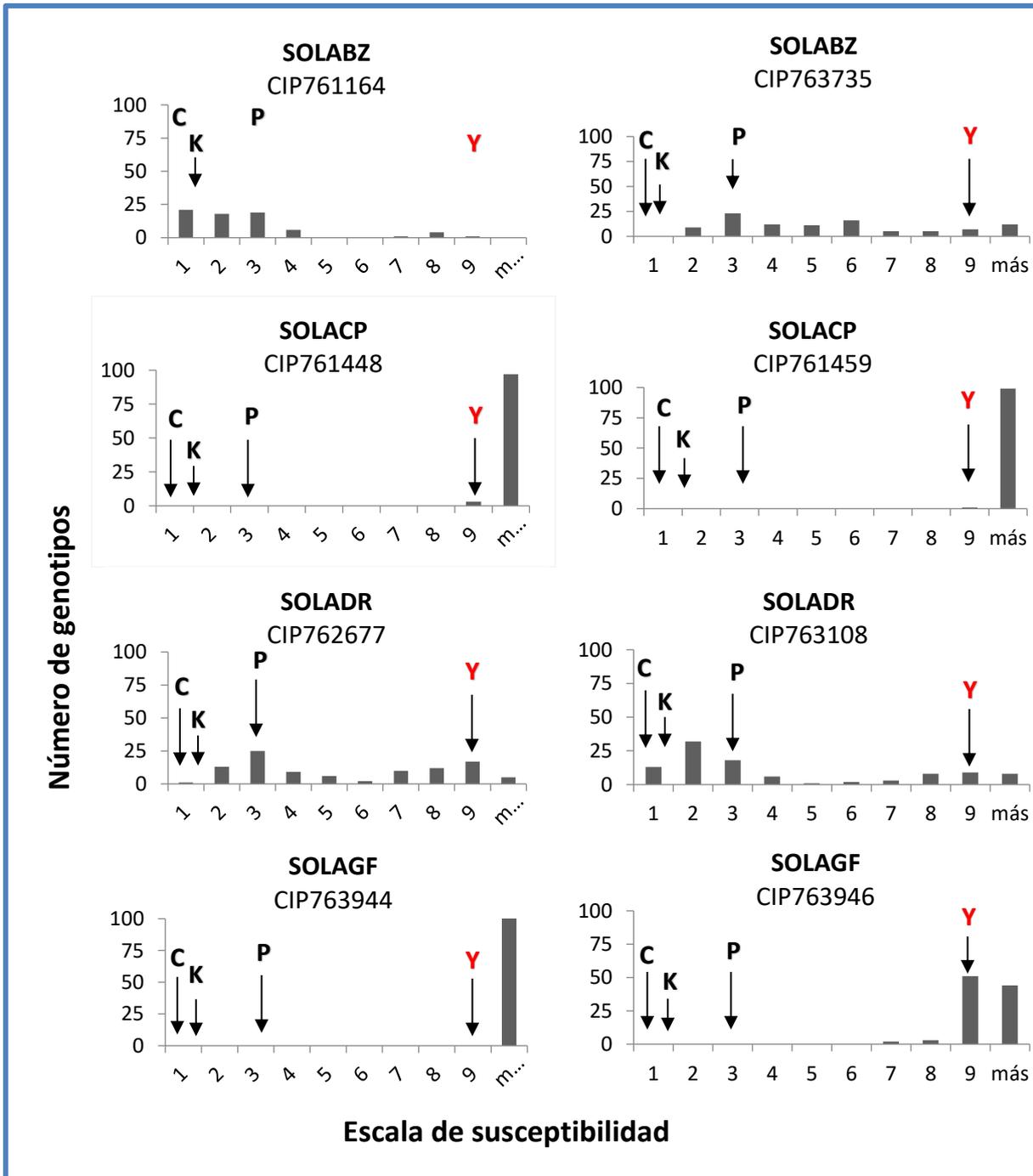
Anexo 5: Sensor climático HOBO Pro v2 (Onset, U23-001, USA)



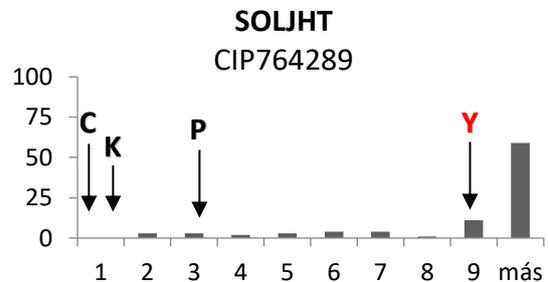
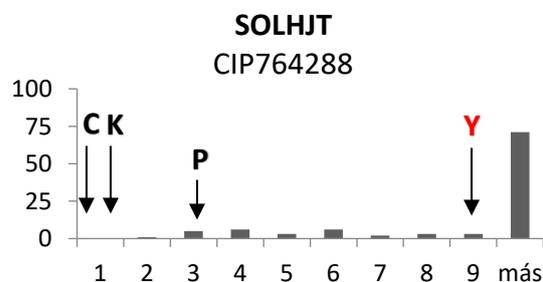
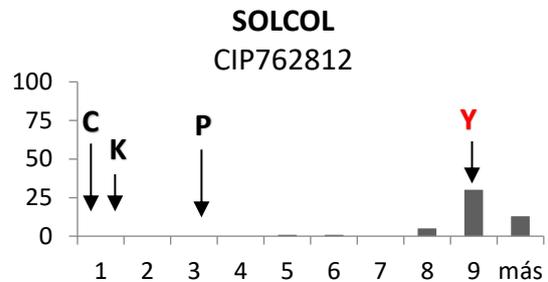
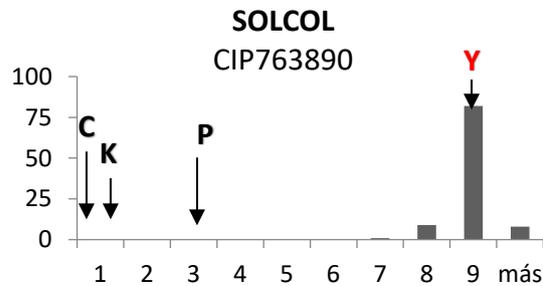
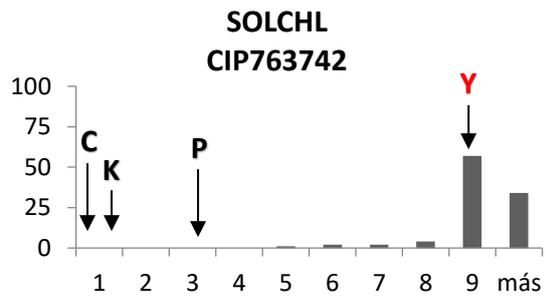
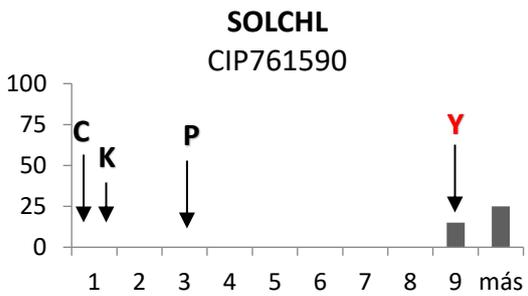
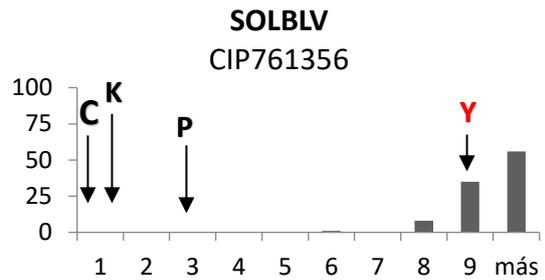
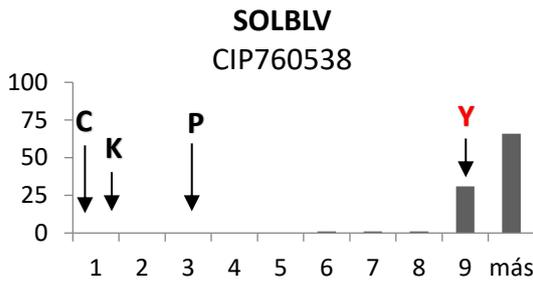
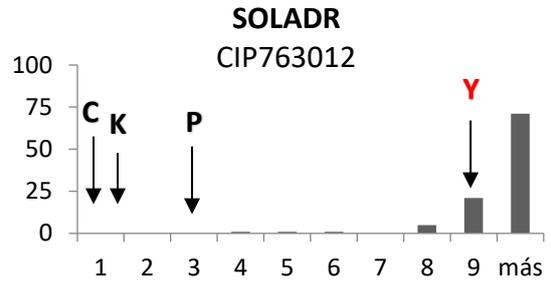
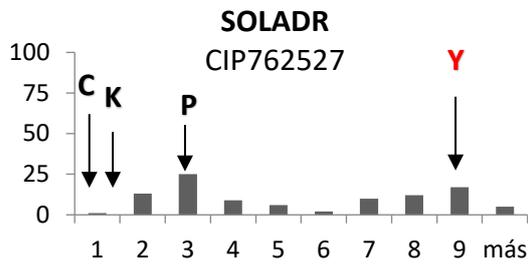
Anexo 6: Variabilidad en la respuesta de las accesiones silvestres de papa frente al tizón tardío.



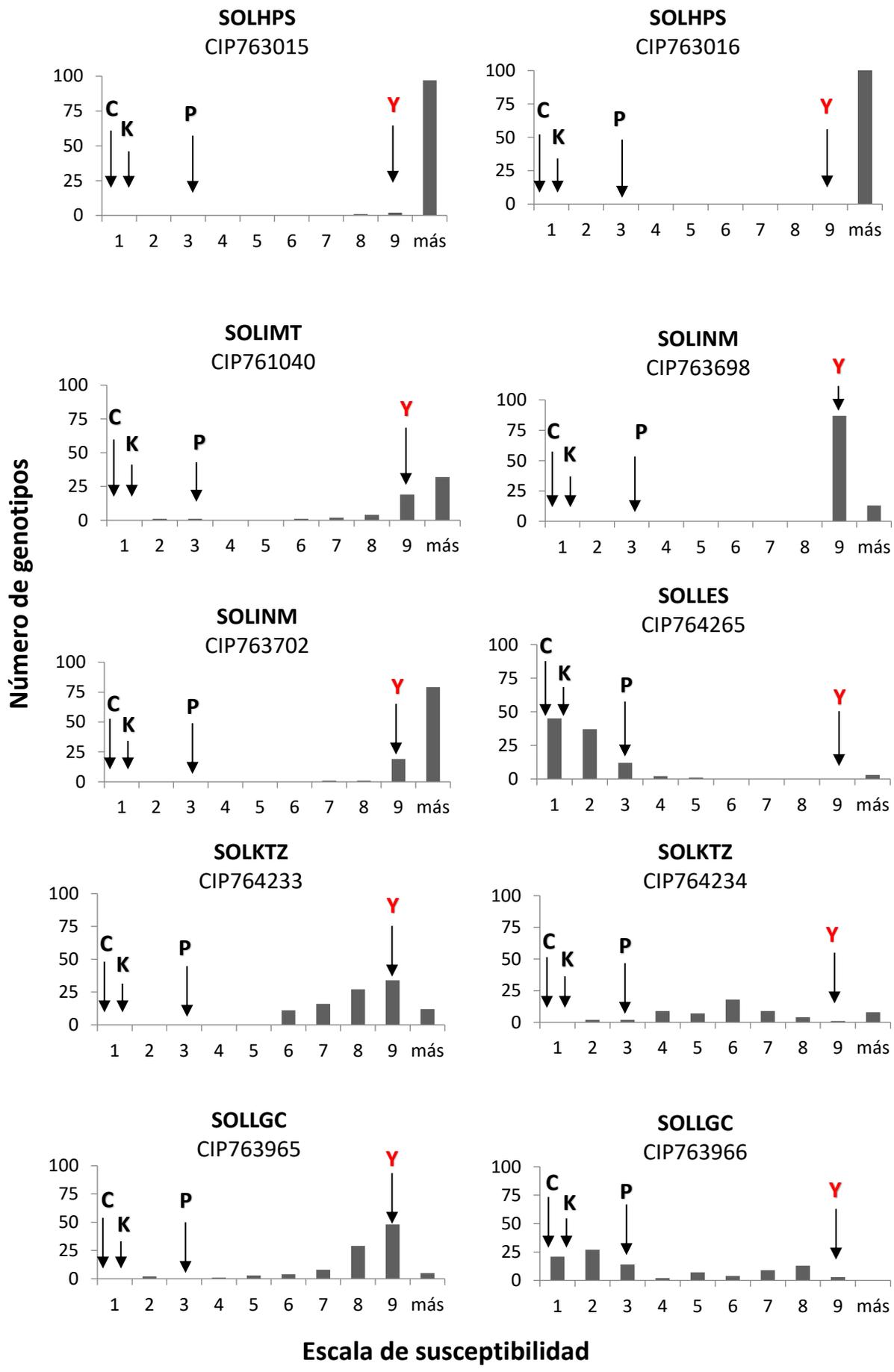
Anexo 7: Distribuciones de frecuencias de las accesiones de papa silvestre resistentes a las pruebas de susceptibilidad a *Phytophthora infestans* en condiciones de invernadero. Los testigos son indicados por flechas. Variedades testigos: C= Chucmarina, K= Kawsay, P= Pallay poncho y Y= Yungay.



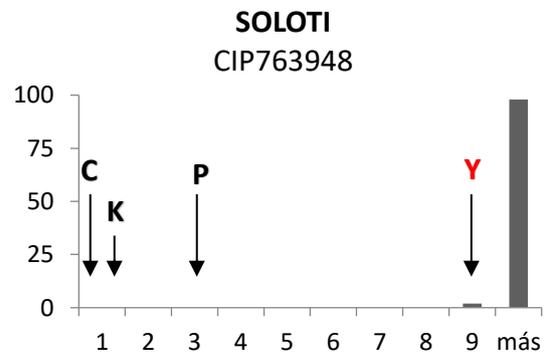
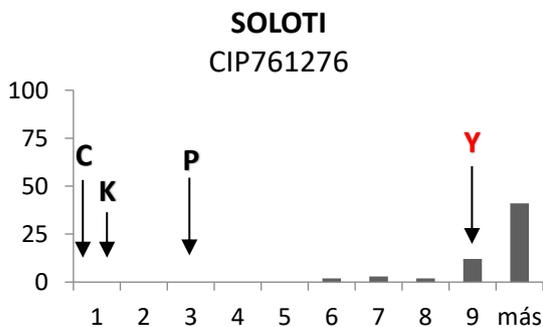
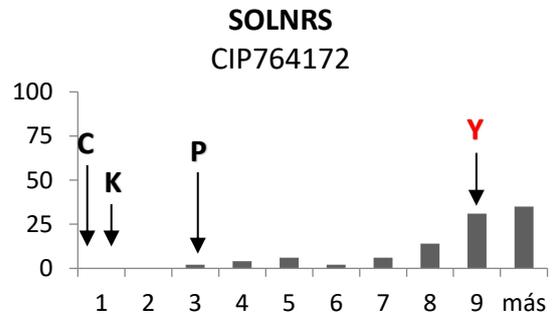
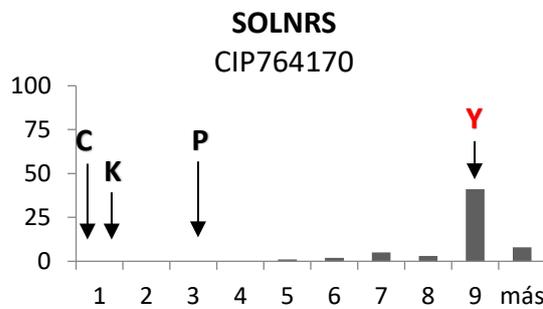
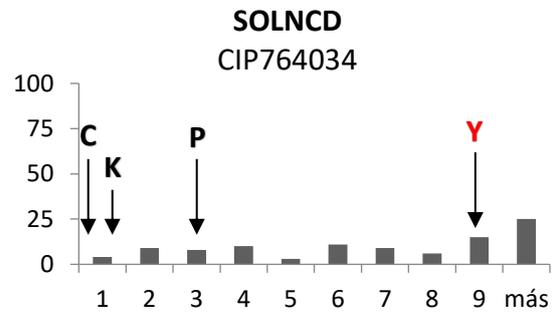
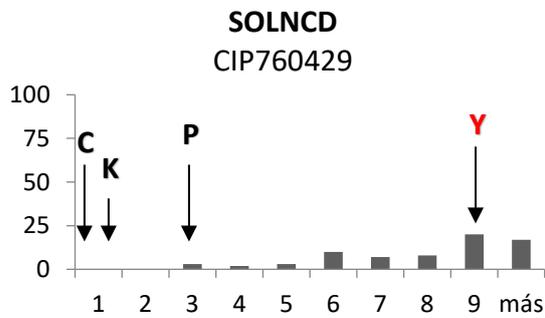
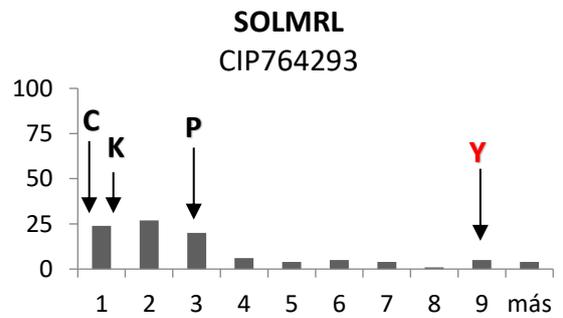
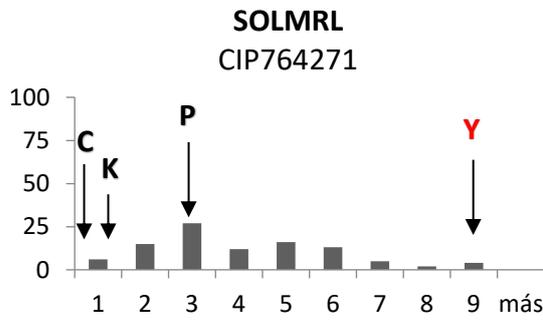
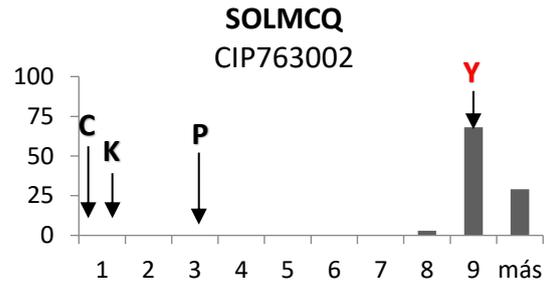
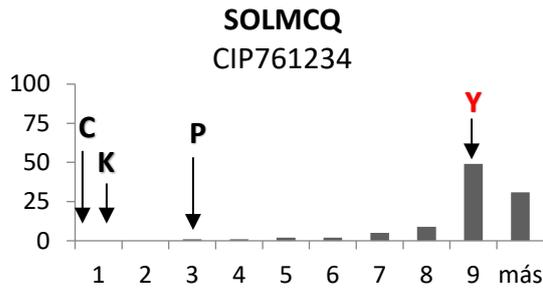
Número de genotipos



Escala de susceptibilidad

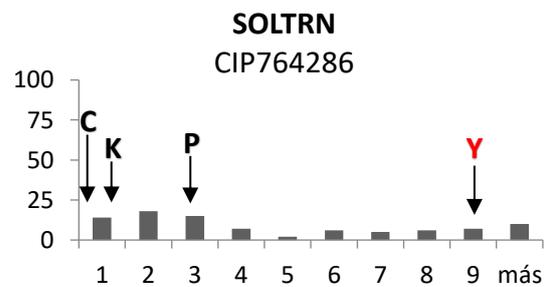
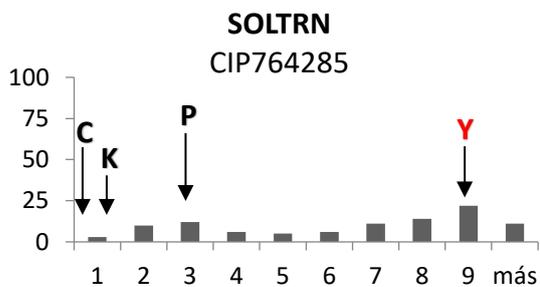
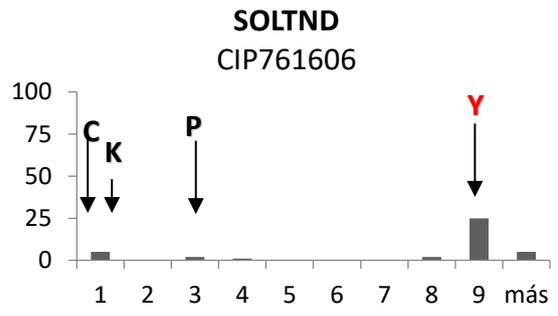
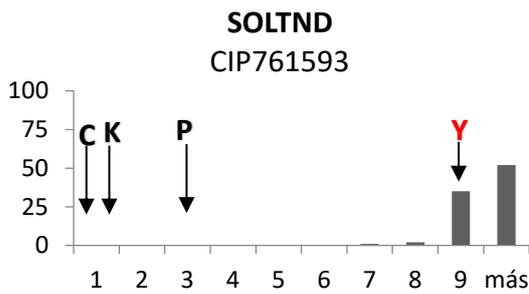
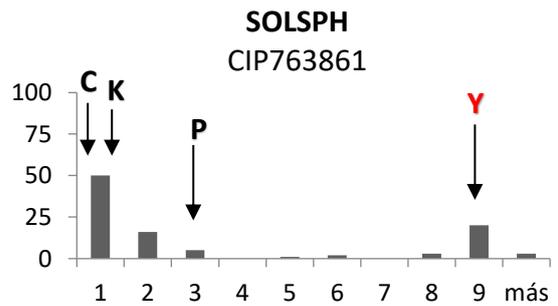
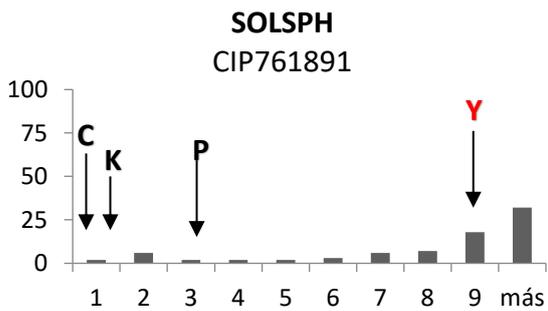
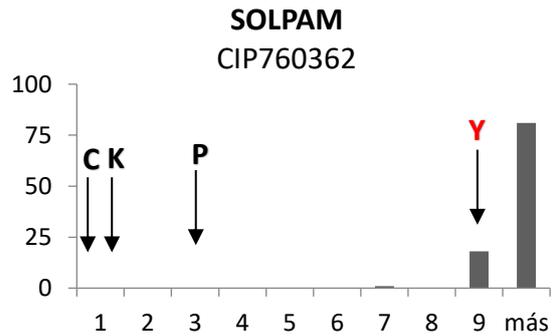
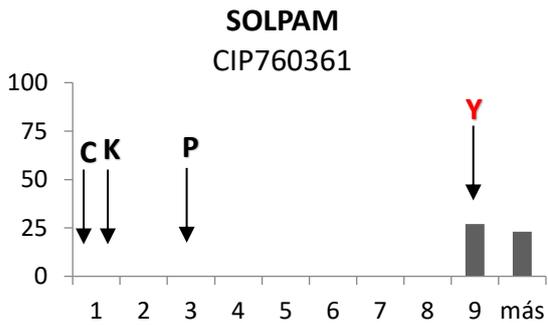
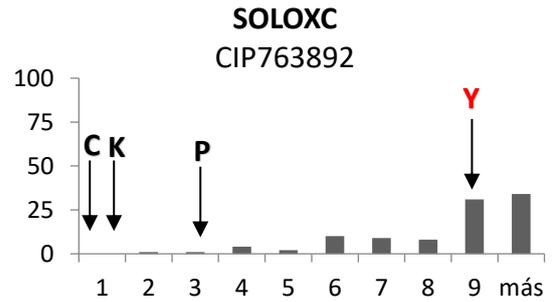
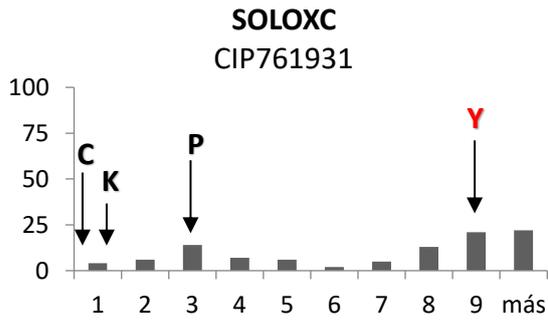


Número de genotipos

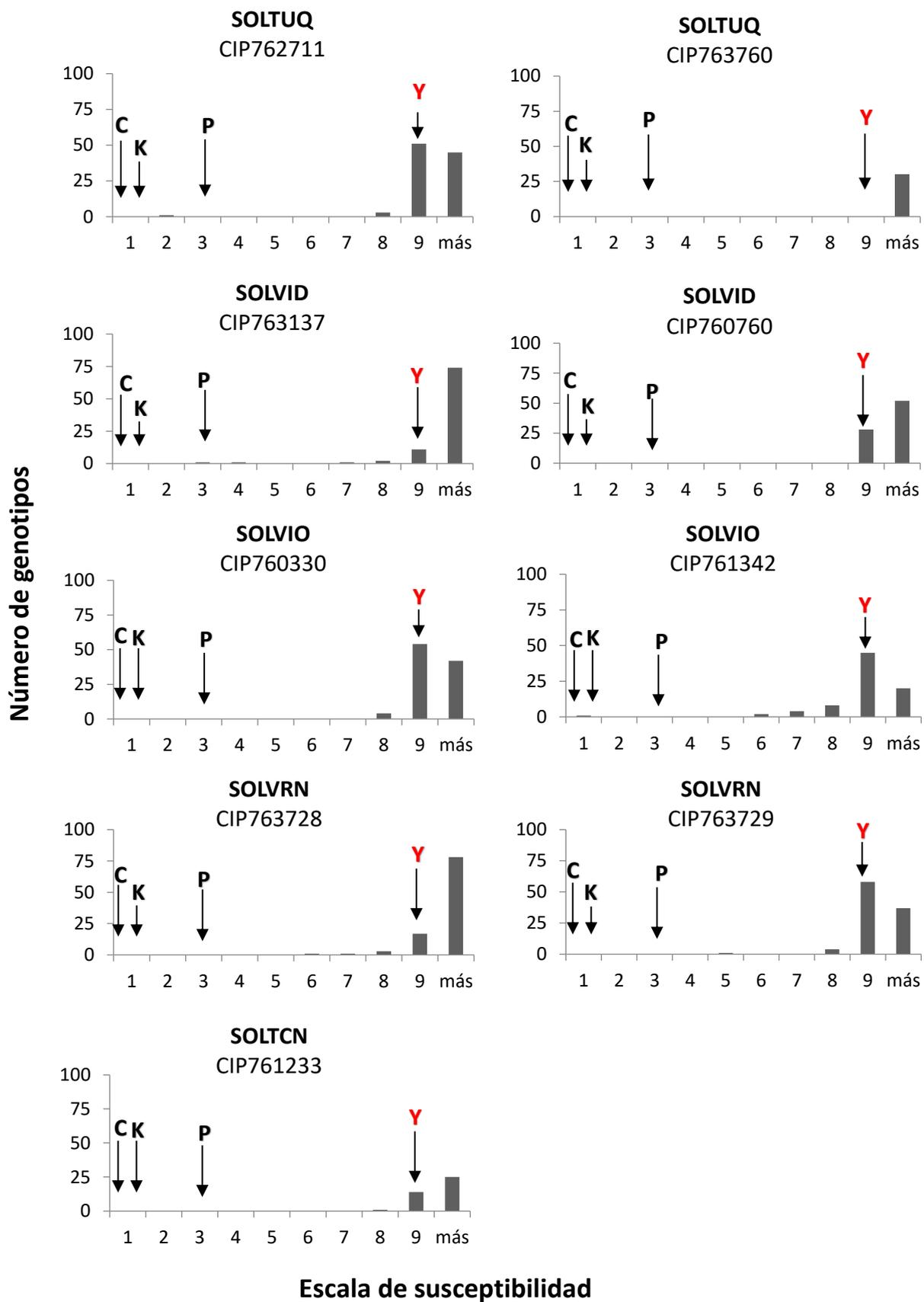


Escala de susceptibilidad

Número de genotipos



Escala de susceptibilidad



Leyenda de abreviaturas

Código de Taxón	Familia	Género	Nombre del Taxón
SOLABZ	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. albornozii</i> Correl
SOLACP	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. ancophilum</i> (Correl) Ochoa
SOLADR	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. andreanum</i> Baker
SOLAGF	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. agrimonifolium</i> Rydb.
SOLAVL	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. avilesii</i> Hawkes & Hjert.
SOLBLV	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. boliviense</i> Dunal
SOLCHL	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. chillasense</i> Ochoa
SOLCOL	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. colombianum</i> Dunal
SOLHJT	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. hjertingii</i> Hawkes
SOLHPS	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. hoopesii</i> Hawkes & K. Okada
SOLIMT	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. immite</i> Dunal
SOLINM	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. incamayoense</i> K. Okada & A. Clausen
SOLKTZ	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. kurtzianum</i> Bitter & Wittm.
SOLLES	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. lesteri</i> Hawkes & Hjert.
SOLLGC	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. longiconicum</i> Bitter
SOLMCQ	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. mochiquense</i> Ochoa
SOLMRL	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. morelliforme</i> Bitter & Muench
SOLNCD	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. neocardenasii</i> Hawkes & Hjert.
SOLNRS	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. neorossii</i> Hawkes & Hjert.
SOLOTI	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. otites</i> Dunal
SOLOXC	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. oxycarpum</i> Schiede
SOLPAM	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. pampasense</i> Hawkes
SOLSPH	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. stenophyllidium</i> Bitter
SOLTGN	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. tacnaense</i> Ochoa
SOLTND	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. tundalomense</i> Ochoa
SOLTRN	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. tarnii</i> Hawkes & Hjert.
SOLTUQ	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. tuquerrense</i> Hawkes
SOLVID	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. vidaurrei</i> Cárdenas
SOLVIO	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. violaceimarmoratum</i> Bitter
SOLVRN	Solanaceae	<i>Solanum</i>	<i>S. vernei</i> Bitter & Wittm.

Anexo 8: Resumen de temperatura ambiental y humedad ambiental en condiciones de invernadero (meses Agosto, Septiembre, Octubre, 2018).

FECHA	HUMEDAD AMBIENTAL	TEMPERATURA AMBIENTAL	
	HR (%)	TEMPERATURA BULBO SECO	TEMPERATURA BULBO HÚMEDO
23/08/2018	97.25%	16.16	15.92
24/08/2018	95.68%	16.15	15.74
25/08/2018	96.36%	16.16	15.83
26/08/2018	96.92%	16.22	15.95
27/08/2018	97.10%	16.34	16.09
28/08/2018	96.68%	16.21	15.91
29/08/2018	95.97%	16.26	15.87
30/08/2018	95.00%	16.23	15.70
31/08/2018	94.40%	16.17	15.58
01/09/2018	96.23%	16.28	15.89
02/09/2018	95.79%	16.20	15.75
03/09/2018	95.65%	16.22	15.77
04/09/2018	96.13%	16.23	15.83
05/09/2018	95.75%	16.24	15.79
06/09/2018	97.08%	16.39	16.09
07/09/2018	95.04%	16.68	16.13
08/09/2018	95.90%	16.64	16.20
09/09/2018	96.83%	16.34	16.01
10/09/2018	98.06%	16.26	16.06
11/09/2018	96.96%	16.29	15.97
12/09/2018	96.92%	16.42	16.09
13/09/2018	95.17%	16.56	16.03
14/09/2018	96.58%	16.21	15.86
15/09/2018	94.11%	16.44	15.81
18/09/2018	91.29%	16.26	15.31
19/09/2018	96.00%	16.21	15.80
20/09/2018	99.58%	16.32	16.31
21/09/2018	97.79%	16.48	16.26
22/09/2018	95.56%	16.38	15.90
23/09/2018	96.17%	16.30	15.89
24/09/2018	93.44%	16.25	15.53
25/09/2018	88.37%	16.13	14.84
26/09/2018	79.78%	16.22	13.86
27/09/2018	74.44%	16.24	13.25
28/09/2018	85.50%	15.98	14.37
09/10/2018	97.73%	16.75	16.54
10/10/2018	96.02%	16.82	16.39
11/10/2018	95.35%	16.15	15.67
12/10/2018	94.89%	16.22	15.69
13/10/2018	95.27%	16.17	15.67
14/10/2018	95.19%	16.17	15.68
15/10/2018	94.47%	16.39	15.79