

JUAN EDISON PAZMIÑO GONZÁLEZ

COMPORTAMIENTO DE LA SECCIÓN LASIOCARPA
DEL GÉNERO SOLANUM A LA PATOGENICIDAD
DE *Phytophthora infestans* EN ECUADOR.

TESIS DE GRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

QUITO

2008

7. RESUMEN

La "Naranjilla" (*Solanum quitoense* Lamarck), es una de las once especies de la Sección *Lasiocarpa*, del género *Solanum* nativa de Colombia, Ecuador y Perú (Whalen, 1982). Es un cultivo importante de las estribaciones oriental y occidental de los Andes del Ecuador. (MAG, 1986). La "Lancha" causado por *Phytophthora infestans* en Ecuador, a inicios de los años 2000 fue considerada por los agricultores como la enfermedad más importante y está presente en todas las provincias de la Amazonía (Revelo y Sandoval 2003). El manejo de esta enfermedad esta asociada con dos estrategias: fungicidas y resistencia genética. No se ha encontrado fuentes de resistencia a Lancha en naranjilla, por lo que las especies de la Sección *Lasiocarpa* podrían proveer de estas fuentes de resistencia (Whalen, 1982). Los objetivos que se plantearon en la investigación fueron: Estandarizar una metodología que permita evaluar en hojas desprendidas y en plántula la reacción a *P. infestans* en la Sección *Lasiocarpa*. Evaluar la reacción de 64 accesiones de la Sección *Lasiocarpa* en hojas desprendidas y en plántulas a dos aislamientos genéticamente diferentes de *P. infestans*. Evaluar en campo la reacción de 64 accesiones de la Sección *Lasiocarpa* a un aislamiento de *P. infestans*. La investigación, fue desarrollada en la EESC- INIAP y en Tandapi - Pichincha a una altitud de 1200 m.s.n.m, con una temperatura promedio de 19.6°C y una precipitación anual de 1800 mm/año.

Para la Estandarización de un protocolo para la evaluación de *P. infestans*, en hojas desprendidas se evaluaron 10 accesiones: *S. pectinatum* ECU-5567, *S. pseudolulo* ECU-6927, *S. sessiliflorum* ECU-5142 DNPV-256, *S. hirtum* DNPV-252 ECU-6242, *S. quitoense* ECU-6674 ECU-6684, *S. tequilense* ECU-5575, DNPV-251; con dos tamaño de plántulas: h1(5 cm) y h2(10 cm) y dos concentraciones de inóculo: c1(800 esp/20ul) y c2(1600 esp/20ul). Se utilizó un Diseño Completamente al Azar con cinco observaciones, la unidad experimental estuvo representada por una hoja de cada accesión.

Las variables evaluadas fueron: Período de Incubación.- Se contabilizó el número de días que transcurrieron desde la inoculación hasta el aparecimiento de síntomas. Período de Latencia.- Se contabilizó el número de días que transcurrieron desde la inoculación hasta el aparecimiento de signos. Tamaño de Lesión.- Se calco el tamaño de la lesión y se calculó el área. Intensidad de Esporulación.- Se utilizó una escala donde: 0= ausencia

de esporulación; 1= esporulación baja; 2= esporulación media y 3= esporulación abundante. Número de Esporangios por lesión.- Se diluyo los esporangios en 2 ml de agua y se contó en la cámara de Neubauer. Viabilidad de Esporas.- Se hizo la clasificación de esporangios diferenciando turgentes y flácidos

Los resultados de la inoculación en hojas desprendidas fueron poco eficientes, se presentaron síntomas solo en las accesiones ECU-6674 y ECU-6674 de *S. quitoense* y ECU-6691 de *S. sessiliflorum*. El fracaso de la infección en hojas a concentraciones altas de esporangios (1600 esporangios/20ul), puede deberse a escapes de la infección por barreras físicas como es la pubescencia.

Para la **Estandarización del protocolo para la evaluación de *P. infestans*, en plántulas** se evaluaron las mismas diez accesiones de la estandarización en hojas, con dos tamaño de plántulas: h1 (5 cm) y h2 (10cm) y dos concentraciones de inóculo: e1 (40000 esp/ml) y c2 (80000 esp/ml). Se utilizó un Diseño Completamente al Azar con cinco observaciones, la unidad experimental estuvo representada por una plántula de cada accesión.

Las variables evaluadas fueron: Tipo de reacción.- Se propuso esta escala de acuerdo a los síntomas observados: 0= sin daño; 1= manchas pequeñas, oscuras, apenas perceptibles; 2= manchas de medianas o extensas, no progresan en necrosis, **ni quiebran**; el tallo y regularmente sin esporulación y 3= mancha extensas, acuosas, causan estrangulamiento y presenta esporulación. Período de incubación.- Se contabilizó el número de días que transcurrieron desde la inoculación hasta el aparecimiento de síntomas. Período de latencia.- Se contabilizó el número de días que transcurrieron desde la inoculación hasta el aparecimiento de signos.

Los resultados de la estandarización del protocolo en plántulas fue que todas las accesiones evaluadas de *S. quitoense*, *S. sessiliflorum*, *S. pectinatum*, *S. pseudolulo*, y *S. tequilense* presentaron síntomas cuando se inocularon con *P. infestans* a la menor concentración que fue 40000 esporangios por ml.

Para la **Evaluación de la Resistencia genética en la Sección *Lasiocarpa* en hojas desprendidas y plántulas** se utilizó 64 accesiones, en hojas desprendidas se utilizando una concentración de inóculo de 1600 esp/20ul en hojas de plántulas de 10 cm. Para plántulas se utilizó las mismas 64 accesiones mencionadas con una concentración de inóculo de 40000 esp/ml utilizando dos aislamientos (3949 Tandapi y 3948 Nanegalito) en plántulas de 10 cm de altura.

Para hojas desprendidas y plántulas se usó un Diseño Completamente al Azar con cuatro observaciones para hojas desprendidas y tres observaciones

para plántulas. La unidad experimental en hojas desprendidas fue una hoja de tercio medio de cada accesión y en plántulas fue una planta de 10 cm de cada accesión. Las variables evaluadas en hojas desprendidas y plántulas fueron las mismas que se utilizaron para la Estandarización. Las variables evaluadas fueron las mismas de la Estandarización en hojas desprendidas y plántulas

Los resultados de Período de Incubación y de Latencia en hojas desprendidas para las 64 accesiones fueron similares ya que son variables complementarias. Se observó reacciones de compatibilidad para las accesiones de las especies *S. quitoense*, *S. sessiliflorum*, *S. stramonifolium* y *S. hirtum*, también no presentaron infecciones las accesiones de las especies *S. pseudolulo*, *S. tequilense*, *S. pectinatum* y *S. hyporhodium*. Los resultados en plántulas fueron que la variable Tipo de Reacción es la más importante para la evaluación, así todas las accesiones de *S. quitoense* y *S. sessiliflorum* y algunas accesiones de *S. pseudolulo*, *S. tequilense*, *S. stramonifolium* y *S. hirtum*, presentaron tipos de reacción en promedio superiores a 2, para los dos aislamientos estudiados (3949 y 3948), estas son reacciones de compatibilidad y por lo tanto estas accesiones/especies son hospedantes de la población de *P. infestans* que infecta naranjilla.

La accesión ECU-6242 de *S. hirtum* y la accesión ECU-13244 de *S. pectinatum*, presentan reacciones intermedias en promedio entre 1 y 2, que son reacciones de resistencia, pero estas especies deben también ser consideradas hospedantes del patógeno, ya que las reacciones de resistencia significan infección y un proceso de colonización.

La ausencia de síntomas de la enfermedad considerada inmunidad (tipo de reacción 0) se presenta en la accesión ECU-6244 de *S. pseudolulo*, ECU-13236 de *S. hyporhodium*, y los Híbridos Puyo y Mera, y aunque estas accesiones podrían considerarse no hospedantes, la presencia de accesiones de la misma especie con reacciones de resistencia o susceptibilidad, sugiere que la reacción 0 está asociada con altos niveles de resistencia.

Se observó interacciones entre aislamientos y accesiones, así, las accesiones de *S. pseudolulo*, ECU-13251, ECU-13240, ECU-3237; de *S. stramonifolium* ECU-13243 y ECU-6209 y el segregante ECU-13253 son resistentes al aislamiento 3948 y susceptible al aislamiento 3949, lo que significa que estos dos aislamientos son patogénicamente diferentes y podrían ser razas diferentes.

Cuando se analizó los resultados de Período de Incubación y de Latencia en plántulas se observó que estos son muy parecidos, lo que se debe a que estas variables son mutuamente dependientes, ya que son

afectados de igual manera por los factores en estudio. Durante el estudio se observó además que el P. de Incubación fue más fácil y más preciso que el P. de Latencia, por lo que el análisis del P. de Incubación representa también los resultados del P. de Latencia.

En la Evaluación de la reacción en campo de las accesiones de la *S. Lasiocarpa* a un aislamiento de *P. infestans* se evaluaron las 64 accesiones mencionadas en el estudio anterior, utilizando un Diseño de Bloques Completos al Azar con tres repeticiones, la unidad experimental fue una planta de cada accesión. Las variables evaluadas fueron: **Número de Lesiones (NL)**. Se contó el número de lesiones en hojas, tallos, inflorescencias por planta. **Tamaño de Lesión (TL)**. Se seleccionó una lesión en hojas, tallos, e inflorescencias por planta con tres repeticiones. Los resultados obtenidos de las accesiones de *S. quitoense*, *S. sessiliflorum*, *S. pseudolulo*, *S. tequilense*, *S. stramonifolium* y *S. hirtum*, muestran que en el campo existe mucha variabilidad en el número y tamaño de lesiones para hojas, tallos e inflorescencias y que únicamente las accesiones de *S. pectinatum*, *S. hyporhodium* y el híbrido Mera no tuvieron lesiones presentando niveles altos de resistencia.

Las conclusiones obtenidas fueron: La inoculación en hojas desprendidas fue poco eficiente posiblemente por las barreras físicas que tiene la Sección *Lasiocarpa* mientras que la inoculación de plántulas fue muy eficiente, todas las accesiones evaluadas de *S. quitoense*, *S. sessiliflorum*, *S. pectinatum*, *S. pseudolulo*, y *S. tequilense* presentaron síntomas y signos a la inoculación.

Todas las accesiones de *S. tequilense*, *S. sessiliflorum* y *S. stramonifolium* fueron susceptibles al menos a un aislamiento de *P. infestans*, lo que puede deberse a la estrecha relación filogenética especialmente entre *S. sessiliflorum* y *S. tequilense* con *S. quitoense*. Las tres accesiones de *S. pectinatum* y las accesiones DNPV-252 y ECU-6242 de *S. hirtum* y la accesión ECU-13236 de *Solanum hyporhodium* fueron resistentes a los dos aislamientos de *P. infestans*, por lo que son buenas fuentes de resistencia.

De acuerdo a los resultados y conclusiones se recomienda que la multiplicar el inóculo de *P. infestans* sea en forma alternada entre frutos de berenjena y las accesiones susceptibles de *S. quitoense* y de *S. sessiliflorum*.

Utilizar las especies de *Solanum pectinatum*, *Solanum hirtum* y *Solanum hyporhodium* en programas de mejoramiento para utilizar la resistencia genética a *P. infestans* presente en estas especies. Investigar el efecto de las tricomas en la infección de *Phytophthora infestans*, en las accesiones de la Sección *Lasiocarpa* de la familia Solanáceae.

SUMMARY

The "Naranjilla" (*Solanum quitoense* Lamarck), is one of the eleven species of the section *Lasiocarpa* of the genus *Solanum*. This species is native of Colombia, Ecuador and Peru (Whalen, 1982). It is an important crop in the Eastern and Western sides of the Andes of Ecuador, which is one of the regions with major biodiversity but simultaneously ecologically very fragile. (MAG, 1986). "Late blight" caused by *Phytophthora infestans*, at the beginning of the 2000's was considered by the farmers the most important disease of naranjilla and at present is distributed along the Amazonian provinces (Revelo and Sandoval 2003). Late blight control is associated with two strategies: fungicide application and genetic resistance. No sources of resistance to this disease has been found in "Naranjilla", therefore the *Lasiocarpa* Section could provide sources of resistance to this pathogen (Whalen, 1982). Objectives of the study were: standardize a methodology to evaluate the disease on detached leaves and seedlings, and evaluate the resistance of 64 accessions of the section *Lasiocarpa* at detached leaves, seedlings and at the field. The research was conducted at the laboratory and green houses of the EESC-INIAP-Pichincha and at the field in Tandapi – Pichincha. EESC is located at 3050 masl with a green house average temperature of 16 °C, while Tandapi is located at an altitude of 1200 m.s.n.m, with an average temperature of 19.6 °C and an annual precipitation of 1800 mm/year.

For the protocol standardization, the isolate 3949 of *P. infestans* collection of the International Potato Center (CIP)-Quito was inoculated on detached leaves and seedlings of the accession ECU-5567 (*S. pectinatum*), ECU-6927 (*S. pseudolulo*), ECU-5142 and DNPV-256 (*S. sessiliflorum*), DNPV-252 and ECU-6242S (*S. hirtum*), ECU-6674 ECU-6684 (*S. quitoense*), and ECU-5575 and DNPV-251 (*S. tequilense*). Accessions were evaluated at two seedlings sizes: 5 cm and 10 cm and at two inoculum concentrations: 800 esporangios/20ul and 1600 esporangios/20ul. Treatments were set up in a Complete Randomized Design with five observations. The experimental unit was a detached leaf and a seedling.

Genetic resistance of the 64 accessions of the *Lasiocarpa* section were evaluated with the CIP_Quito *P. infestans* isolates 3949 and 3948. Accessions were evaluated in detached leaves with at inoculum concentration of 1600 esp/20ul and at seedlings of 10 cm high with an inoculum concentration of 40000 sporangia/ml.

In both experiments: Incubation Period, Latency Period, Lesion Size (cm²), Sporulation Intensity (0: no sporulation; 1= low sporulation; 2= some sporulation 3= high sporulation), number of sporangia per lesion and viability of sporangia were evaluated.

Inoculation on detached leaves was incompletely efficient. Disease symptoms which showed pathogen infection was only observed in accessions ECU-6674 and ECU-6674 of *S. quitoense*, and in the accession ECU-6691 of *S. sessiliflorum*. Infection failure on detached leaves could be due to infection escape for the high pubescence of the *Lasiocarpa* section.

On seedlings on the other hand, the inoculation was efficient. Symptoms either of susceptible or resistance types were observed in all accessions evaluated at both seedling sizes (5 cm and 10cm) and for both inoculum concentrations (40000 sporangia/ml and 80000 sporangia/ml).

As in the protocol standardization most accessions of *S. quitoense*, *S. sessiliflorum*, *S. stramonifolium* and *S. hirtum* were not infected by the pathogen on detached leaf inoculations. At seedling inoculations on the other hand, all accessions of *S. quitoense* and *S. sessiliflorum*, and some accessions of *S. pseudolulo*, *S. tequilense*, *S. stramonifolium* and *S. hirtum* showed reaction types superior to 2, which is susceptibility for both isolates (3949 and 3948). As at least one accession of these species were susceptible to at least one isolates, these species are considered hosts of *P. infestans* infecting "naranjilla".

Accessions ECU-6242 of *S. hirtum* and accessions ECU-13244 of *S. pectinatum*, showed intermediate reactions (1 and 2). Accession ECU-6244 of *S. pseudolulo*, ECU-13236, an accession of *S. hyporhodium*, and the Hybrids Puyo and Mera showed reaction type 0. These reactions are considered resistance, and therefore these accessions carry sources of resistance to *P. infestans* of naranjilla.

In this study, interactions between isolates and accessions were observed. Accessions ECU-13251, ECU-13240, ECU-3237 of *S. pseudolulo*, ECU-13243 and ECU-6209 of *S. stramonifolium* were resistant to isolation 3948, while susceptible to isolation 3949, which means that these isolates are pathogenically different and could be different races.

Main conclusions of the study are:

- Inoculation on detached leaves was not little efficient possibly due to the leaf pubescens of the section *Lasiocarpa*.

- Inoculation on seedlings on the other hand was efficient and allow discrimination of resistance
- All accessions of *S. tequilense*, *S. sessiliflorum* and *S. stramonifolium* were susceptible to at least one isolate of *P. infestans*. Susceptibility of these species could be due to the close phylogenetic relationship.
- All accessions of *S. pectinatum*, accessions DNPV-252 and ECU-6242 of *S. hirtum* and accessions ECU-13236 of *Solanum hyporhodium* were resistant to both isolates of *P. infestans*.