



Agro-biodiversidad y producción de semilla con el sector informal
a través del mejoramiento participativo en la Zona Andina

22 - 26 de Septiembre del 2003
Lima - Perú

Daniel Danial



Instituto Nacional de Investigación Agraria



PREDUZA, es el Proyecto de Mejoramiento para Resistencia Duradera en Cultivos de las zonas altas en la Región Andina. PREDUZA, es ejecutado por el Laboratorio de Mejoramiento de la Universidad Wageningen (WU) de Holanda y financiado por el Ministerio Holandés de Desarrollo y Cooperación, con su siglas en Holandés DGIS. PREDUZA, tiene su sede en Quito-Ecuador y esta relacionado con el mejoramiento genético y participativo de los cultivos altos en la región andina.

Dirección:

PREDUZA (Proyecto de Resistencia Duradera en la Zona Andina)
P/a CIAT, Avs. Eloy Alfaro y Amazonas. Edificio del Ministerio de Agricultura (MAG), cuarto piso, oficina 401, Quito-Ecuador
Tel-fax: 593-2-500316/541997
e-mail: ddanial@ciatfza.org.ec
web: www.preduza.org

Cita Correcta: Agro-biodiversidad y producción de semilla con el sector informal a través del mejoramiento participativo en la Zona Andina, 22-26 de Septiembre del 2003, Lima – Perú. Daniel L. Danial, ed. 217 páginas.

LÍNEAS PROMISORIAS DE QUINUA CON RESISTENCIA CUANTITATIVA AL MILDIÚ EN ECUADOR

Elaine McElhinny, Nelson Mazón, Marco Rivera y Eduardo Peralta

Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental *Santa Catalina* (EESC). Panamericana Sur, km 14. Quito – Ecuador.
elainemcelhinny@hotmail.com

Resumen

Se colectaron nueve aislamientos de mildiú en áreas de cultivo de quinua en el norte de Ecuador; los aislamientos se inocularon en una serie diferencial de líneas de quinua correspondientes a tres grupos de resistencia para determinar sus factores de virulencia. Se identificaron tres factores de virulencia. Los nueve aislamientos fueron también inoculados en 20 líneas promisorias y se determinó que existe una interacción genotipo x aislamiento. Instancias de resistencia cuantitativa fueron detectadas tanto en la etapa de plántula como en el campo en las accesiones ECU-234, ECU-244 y ECU-294. Las líneas ECU-338 y ECU-572 tienen aparentemente también resistencia cuantitativa, o bien, una combinación de resistencia cuantitativa y cualitativa. Se recomienda realizar la evaluación de la severidad de la enfermedad durante la época intermedia de crecimiento, es decir entre los 60 y 80 días después de la siembra, en vista de que la correlación entre las épocas de evaluación y el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC) fue la más alta durante esa época.

Introducción

La quinua, por su alto valor nutritivo y amplia adaptación a diferentes condiciones de clima y suelo, representa un importante cultivo para la seguridad alimentaria y para la lucha contra la desnutrición infantil, principalmente en las comunidades de bajos recursos de la Sierra ecuatoriana. Sin embargo, en muchas zonas se ha dejado de sembrar quinua, debido quizás a la pérdida de la semilla, poca demanda en el mercado o dificultad para preparar alimentos a partir de este grano (falta de agua, escasez de leña, etc.); por lo tanto, es necesario realizar ensayos agronómicos para evaluar variedades de quinua en diferentes condiciones ambientales,

con el fin de desarrollar variedades apropiadas.

Por otro lado, la principal enfermedad de la quinua en Ecuador es el mildiú (*Peronospora farinosa*), por lo que se justifica la ejecución de investigaciones que asistan en obtener nuevas variedades con resistencia a este problema y que concomitantemente logren mejores rendimientos por área, a bajo costo y sin contaminar el ambiente.

Durante el ciclo agrícola 2000-2001 se caracterizó y evaluó la colección ecuatoriana de quinua y como resultado se seleccionaron 20 líneas promisorias de acuerdo a su precocidad, rendimiento, peso de

100 semillas, contenido de saponina y respuesta a mildiú.

Los objetivos que se plantearon en este trabajo fueron:

1. Generar y actualizar la información disponible sobre la virulencia de las poblaciones de mildiú en las mayores áreas de producción de quinua.
2. Estudiar la relación genotipo x ambiente con relación a resistencia a mildiú en estado de plántula.
3. Identificar fuentes de resistencia a mildiú en estado de plántula.
4. Estudiar la relación entre resistencia de campo (planta adulta) y resistencia de invernadero (plántula).
5. Estudiar la relación entre fecha de observación y tercio de la planta observado, a fin de determinar el mejor método de evaluación de mildiú.

Materiales y métodos

El estudio se realizó en dos etapas:

1) Identificación de patrones de virulencia del mildiú en Ecuador y 2) estudio de resistencia cuantitativa en líneas promisorias de quinua.

1. Estudio de la virulencia del mildiú de la quinua en Ecuador

Nueve muestras de mildiú de plantas cultivadas y silvestres fueron colectadas en las provincias de Imbabura, Pichincha y Cotopaxi.

Para identificar los factores de virulencia, los aislamientos fueron inoculados en cada una de las siete líneas de quinua siguiendo la serie de diferenciales desarrollados por Ochoa *et al.* (1999). Para determinar las interacciones genotipo x aislamiento, así como para probar la utilidad de la serie diferencial, se utilizaron 20 líneas promisorias de quinua. Los nueve aislamientos fueron inoculados en tres plantas por línea, con tres repeticiones.

En invernadero, las plantas fueron sembradas en macetas con un sustrato pasteurizado. Las plantas fueron inoculadas cuando tenían cuatro hojas verdaderas, alrededor de 20 días después de la siembra. El inóculo fue calibrado a 10^6 esporas/ml a razón de 0.3 ml/planta. Seis días después de la inoculación, las plantas fueron nebulizadas con agua y ubicadas en cajas plásticas durante toda la noche. Al siguiente día las plantas fueron evaluadas en relación a resistencia a mildiú, utilizando la escala (0-5) desarrollada por Ochoa *et al.* (1999) (Cuadro 1).

2. Estudio de resistencia cuantitativa de quinua en Ecuador

Las 20 líneas promisorias de quinua fueron evaluadas en más detalle en relación a su resistencia frente a dos aislamientos de quinua (codificados como G e I).

Cuadro 1. Tipo de reacción a mildiú (*Peronospora farinosa*) en hojas primarias de quinua (*Chenopodium quinoa*).

Tipo de reacción	Clasificación	Síntomas
0	Resistente	Ausencia de síntomas, necrosis no perceptible.
1	Resistente	Pequeñas lesiones cloróticas y necróticas (2-5 mm) con micelio truncado en el mesófilo de la hoja.
2	Resistente	Pequeñas lesiones cloróticas (4-8 mm) con poca esporulación.
3	Susceptible	Lesiones cloróticas medianas con esporulación.
4	Susceptible	Lesiones grandes no definidas claramente, con esporulación.
5	Susceptible	Clorosis con abundante esporulación en el haz y en el envés.

2.1. En invernadero

La inoculación y evaluación en invernadero siguieron igual método que el descrito en los párrafos anteriores, pero con mayor número de repeticiones.

2.2. En campo

Los ensayos en campo estuvieron ubicados en la Estación Experimental Santa Catalina (EESC, Pichincha), en la comunidad La Esperanza (Otavalo, Imbabura) y en Ninín Cachipata (Saquisilí, Cotopaxi), en bloques completos al azar con tres repeticiones.

El aislamiento G fue utilizado para inocular el ensayo de la EESC. La inoculación se realizó mediante dos procedimientos: un total de 300 plantas de la variedad INIAP-Tunkahuán infectado con el aislamiento G fue transplantado 25 días después de la siembra. Además, 32 días después de la siembra 4 l del inóculo fueron aplicados al ensayo, repitiendo el

procedimiento 59 días después de la siembra.

La primera evaluación de resistencia a mildiú en campo se realizó 48 días después de la siembra y desde entonces una evaluación por semana, resultando en seis evaluaciones. La severidad de la enfermedad fue medida estimando el porcentaje de tejido infectado de cinco plantas por parcela escogidas al azar. De cada una de las cinco plantas, se utilizaron tres hojas para estimar la severidad.

El área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC) se calculó después de registrar el nivel de resistencia a mildiú. El coeficiente de correlación de Spearman fue utilizado para determinar la relación entre la evaluación de mildiú en diferentes fechas de evaluación y la AUDPC, así como la relación entre tipo de infección y AUDPC, fecha de floración y AUDPC, y severidad de mildiú en los diferentes tercios de la planta.

Resultados

1. Estudio de la virulencia de mildiú de la quinua en Ecuador

Los resultados de virulencia de los nueve aislamientos en las siete líneas diferenciales de quinua se muestran en el Cuadro 2. En las plántulas, aislamientos con factores de virulencia V2, V3 y V4 fueron identificados. Los aislamientos B, C, F y H fueron clasificados por poseer V2. Los aislamientos E, G e I fueron

de tipo V3; el aislamiento D fue de tipo V4. El aislamiento A no cayó en los patrones normales de virulencia, siendo más bien virulento en líneas con resistencia R1, avirulento en una línea R2 y mostró una mezcla de reacción en líneas con resistencia R3. Aislamientos colectados en un mismo campo (C y D, E y F) no tuvieron el mismo grupo de virulencia. La variedad Tunkahuán (testigo) fue susceptible a todos los aislamientos.

Cuadro 2. Virulencia de nueve aislamientos de mildiú en siete líneas diferenciales de quinua.

Líneas de la serie diferencial			Tipo de infección ^a de aislamientos de mildiú									
Línea ^b	Factores de resistencia	Origen de la línea ^c	A	B	C	F	H	E	G	I	D	
Tunkahuán ^d	-	Carchi	5	5	3	3	4	4	3	4	3	
ECU-233	R1	Pichincha	3	5	4	4	3	5	5	4	4	
ECU-291	R1	Pichincha	3	4	4	4	4	5	3	4	5	
ECU-424	R1	Cotopaxi	4	5	4	4	4	5	4	4	3	
ECU-497	R1	Pichincha	5	4	3	4	4	5	4	4	4	
ECU-470	R2	Bolivia	1	1	1	2	2	3	3	3	3	
ECU-379	R3	Chimborazo	3	1	1	2	1	2	1	1	3	
ECU-531	R3	Pichincha	1	2	1	1	1	1	2	2	3	
Factor de virulencia ^e			V1	V2	V2	V2	V2	V3	V3	V3	V4	

^aTipo de infección en la escala de 0-5 según Ochoa *et al.* (1999), con 0-2 equivalente a resistente y 3-5 a susceptible. El puntaje es un promedio de dos inoculaciones, tres plantas por combinación línea-aislamiento en combinación por inoculación.

^bIdentificación en la Colección Nacional Ecuatoriana.

^cTodas las líneas son de Ecuador, a excepción de ECU-470.

^dTunkahuán es el control.

^eLa virulencia en líneas sin factor de resistencia fue denominada V1. Virulencia en líneas con R1 fue denominada V2.

El tipo de infección de nueve aislamientos en 20 líneas de quinua se presenta en el Cuadro 3. Resistencia completa (tipo 1 ó 2) para todos los aislamientos, excepto el aislamiento D, fue observada en por lo menos una de las 20 líneas de quinua inoculadas. La resistencia completa para el aislamiento I fue

más común, con 11 líneas con tipo de reacción 1 ó 2. Seis líneas no mostraron resistencia completa para este aislamiento. Además, las líneas con resistencia a B, C, F o H (ECU-228, ECU-284, ECU-286, ECU-315, ECU-321, ECU-338, ECU-572 y ECU-585) no siempre tuvieron resistencia para todos los tres

aislamientos, considerando que B, C y F aparentemente son del mismo grupo de virulencia (V1). Igual

sucede para líneas con resistencia para los aislamientos E, G e I del grupo de resistencia V3.

Cuadro 3. Tipo de infección de mildiú de nueve aislamientos en 20 líneas de quinua.

Línea ^a	Tipo de reacción de los aislamientos de mildiú								
	V1		V2			V3			V4
	A	B	C	F	H	E	G	I	D
ECU-228	5	5	0	4	5	3	4	2	4
ECU-234	4	5	5	4	5	5	3	3	5
ECU-239	4	3	4	3	5	4	4	2	4
ECU-244	5	5	5	5	4	4	3	3	4
ECU-271	4	5	4	5	4	4	5	1	3
ECU-284	5	4	4	3	2	2	3	2	4
ECU-286	3	5	2	4	3	2	2	1	3
ECU-287	4	4	4	4	3	3	1	3	5
ECU-294	3	4	3	3	3	4	3	3	3
ECU-298	5	5	4	5	5	4	5	2	4
ECU-315	3	3	3	2	2	3	1	3	4
ECU-317	5	5	-	4	3	3	4	2	4
ECU-321	2	4	3	2	1	3	1	1	4
ECU-338	3	2	3	3	2	2	2	2	3
ECU-359	5	5	3	3	4	4	4	4	4
ECU-524	4	5	3	3	3	3	4	2	3
ECU-544	5	5	4	-	5	4	4	4	4
ECU-572	3	3	1	2	2	3	1	1	3
ECU-580	5	4	4	4	4	5	5	3	4
ECU-585	3	4	3	5	1	3	2	4	3
Promedio tipo de infección	4.0	4.3	3.3	3.6	3.3	3.4	3.1	2.4	3.8

^aIdentificación en la Colección Nacional Ecuatoriana.

2. Estudio del tipo de resistencia cuantitativa al mildiú de la quinua en Ecuador

Las diferencias en AUDPC entre líneas fueron más extremas en EESC y menores en Ninín Cachipata. En la EESC, el AUDPC para la línea más susceptible (ECU-228) fue 10 veces más que la más resistente (ECU-572), mientras que en Ninín Cachipata la línea más susceptible (ECU-228) tuvo un

AUDPC del doble en relación a la más resistente (ECU-544). Las diferencias en orden de AUDPC para las líneas entre las dos localidades indica una interacción genotipo x aislamiento.

Ocho líneas de quinua pueden ser identificadas con tipo de infección cerca de 3 en invernadero para los aislamientos G e I (Cuadro 4). Mientras el tipo de infección es cercanamente igual para estas líneas

(susceptible, pero con un reducido desarrollo de la enfermedad), el

AUDPC de estas líneas varía dentro de un sitio de campo.

Cuadro 4. Tipo de infección causado por los aislamientos G e I y valores de AUDPC en cuatro sitios para líneas de quinua con resistencia cuantitativa.

Línea ^a	Tipo de infección		AUDPC			
	Aisl. G	Aisl. I	EESC ^b - Sección Principal	EESC ^b - Sección Oriental	La Esperanza	Ninín Cachipata
ECU-271	3.1	3.1	185	1337	700	1900
ECU-234	3.8	3.2	283	917	340	2460
ECU-294	2.2	2.9	345	1337	368	2830
ECU-244	2.9	3.3	398	1407	770	1880
ECU-359	3.5	3.5	413	2177	963	2484
ECU-317	3.1	3.7	424	987	410	1937
ECU-239	2.8	3.0	526	1547	410	2388
ECU-298	3.4	3.4	608	1407	742	2995
Rango de AUDPC para el sitio			107-975	441-2317	340-2100	1498-3610

^aIdentificación en la Colección Nacional Ecuatoriana.

^bEstación Experimental Santa Catalina.

En todas las líneas, los valores del AUDPC son más altos en el tercio bajo de la planta, disminuyendo progresivamente en los siguientes tercios. La severidad de mildiú en el tercio superior no supera el 7% en cualquier fecha de evaluación en todas las líneas.

El tipo de infección en plántulas en general no fue uniforme debido a la desuniformidad genética de las líneas. Una correlación más fuerte entre AUDPC y tipo de infección se observa si las líneas menos homogéneas están excluidas del análisis. El tipo de infección de los dos aislamientos muestra una correlación más fuerte a AUDPC en la EESC que en Ninín Cachipata.

Se determinó una correlación muy significativa entre severidad de mildiú y épocas de evaluación a los 70 y 79

días después de la siembra. El AUDPC en La Esperanza, Ninín Cachipata y Sección Oriental de la EESC mostró correlación significativa para épocas de evaluación entre 61 y 91 días después de la siembra. La correlación fue muy alta entre AUDPC y fecha de evaluación entre 61 y 70 días después de la siembra.

Las líneas florecieron entre 83 y 135 días después de la siembra. En este caso, se encontró una clara correlación entre valores altos de AUDPC y líneas tardías (más días a la floración) (Cuadro 5).

Conclusiones

Se colectaron nueve aislamientos de mildiú en áreas de cultivo de quinua en el norte de Ecuador. Los aislamientos se inocularon en una

serie diferencial de líneas de quinua correspondientes a tres grupos de resistencia para determinar sus factores de virulencia.

Los aislamientos fueron también inoculados en 20 líneas promisorias para fitomejoramiento. El factor de virulencia para aislamientos, tal

como está determinado por la serie diferencial de Ochoa *et al.* (1999), no se correlacionó con los patrones de virulencia identificados en este estudio para las 20 líneas promisorias. Por lo mismo, se determinó que existe una interacción genotipo x aislamiento.

Cuadro 5. Valores de AUDPC y días a la floración de 20 líneas de quinua en la Estación Experimental Santa Catalina.

Línea ^a	AUDPC	Días a la floración ^b
ECU-572	107	83
ECU-284	135	83
ECU-271	185	90
ECU-286	190	83
ECU-315	239	85
ECU-234	283	90
ECU-585	307	83
ECU-287	309	83
ECU-294	345	83
ECU-544	362	85
ECU-524	373	83
ECU-321	393	83
ECU-338	394	92
ECU-244	398	90
ECU-359	413	109
ECU-317	424	85
ECU-580	456	125
ECU-239	526	85
ECU-298	608	90
Tunkahuan ^c	709	106
ECU-228	975	85

^aIdentificación de la Colección Nacional Ecuatoriana.

^bDías a la floración, medidos cuando al menos el 50% de plantas por parcela está en floración.

^cTunkahuán es el testigo.

Se identificaron los tipos de infección 1 a 4 en plántulas de 20 líneas de quinua inoculadas con dos aislamientos de mildiú colectados en el norte de Ecuador. El tipo de infección 3 aparentemente es intermedio entre la completa

resistencia y la susceptibilidad. Las líneas con el tipo de infección 3 tienen diferentes niveles de resistencia en el campo, lo que es indicativo de que esta resistencia es cuantitativa en lugar de cualitativa. Instancias de resistencia cuantitativa

fueron detectadas en las líneas ECU-234, ECU-244 y ECU-294. Las líneas ECU-338 y ECU-572 aparentemente también tienen resistencia cuantitativa, o bien, una combinación de resistencia cuantitativa y cualitativa.

El método de inoculación foliar por separación, que podría mejorar la eficiencia de la prueba de patogenicidad, no funcionó y requeriría el uso de una cámara de crecimiento.

La evaluación de la severidad de la enfermedad durante la época intermedia de crecimiento, es decir a los 60 - 80 días después de la siembra, generó los mejores resultados, en vista de que la correlación entre las épocas de evaluación y el AUDPC fue la más alta durante esta época. Una forma alternativa es la de evaluar la primera vez cuando un testigo susceptible tiene entre 20 y 35% de infección. Se recomienda realizar la inoculación de los ensayos de campo por lo menos dos veces durante el ciclo agronómico, a fin de asegurar una presión adecuada de la enfermedad para observar diferencias en niveles de resistencia.

Las líneas tardías tuvieron valores significativamente más altos de AUDPC. En este sentido, el fitomejoramiento orientado hacia líneas más precoces puede también reducir la susceptibilidad.

Bibliografía

- McElhinny, E. 2002. Resistance to downy mildew (*Peronospora farinosa* f. sp. *chenopodii*) in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and aspects of participatory evaluation with farmers in Ecuador. Thesis for the degree of Masters of Science in plant breeding. Laboratory of Plant Breeding, Wageningen University, the Netherlands. 130 p.
- Mazón, N., M. Rivera, E. Peralta, J. Estrella, C. Tapia. 2002. Catálogo del banco de germoplasma de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) del INIAP – Ecuador. PRONALEG-GA/DENAREF – INIAP. Quito, Ecuador. 98 p.
- Ochoa, J., H. Frinking, T. Jacobs. 1999. Postulation of virulence groups and resistance factors in the quinoa/downy mildew pathosystem using material from Ecuador. *Plant Pathology*, 48, 425-430.