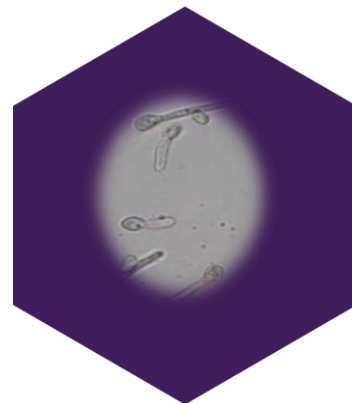




Estación Experimental Santa Catalina

DEPARTAMENTO DE PROTECCIÓN VEGETAL

INFORME ANUAL 2021



INFORME ANUAL 2021

1. Departamento / Programa : Nacional de Protección Vegetal

2. Nombre del Director (a) de la Estación Experimental

Ing. Karla Tinoco (Hasta Septiembre de 2021)

Ing. Jorge Rivadeneira. M. Sc (Desde Octubre de 2021)

3. Responsable del Departamento / Programa en la Estación Experimental:

Dra. María Luisa Insuasti Arrobo, M. Sc

4. Equipo técnico multidisciplinario I+D

Área Entomología

Dra. Sandra Garcés Carrera, PhD

Dra. Carmen Castillo Carrillo, PhD

Área Fitopatología

Dr. José Ochoa Lozano, PhD

Ing. Judith Zapata, Máster

Ing. Martín Moya, Máster (Hasta julio 2021)

Área Control Biológico

Ing. Cristina Tello, M. SC

Área Nematología

Ing. Pablo Llumiquinga

Área Laboratorio Fitopatología

Ing. Geoconda Cañizares, (Incorporación al Departamento desde marzo 2021)

Personal de Apoyo

Tnlga. Lucía Maribel Cevallos-Secretaria a tiempo parcial

Sra. Blanca Elizabeth Puco-Conserje a tiempo parcial

5. Equipo colaborador

Programa de Leguminosas y Granos Andinos

Ing. Ángel Murillo, Ing. Diego Rodríguez, Ing. Laura Vega.

Núcleo de Transferencia de Tecnología:

Ing. Victoria López, Ing. Fausto Yumisaca, Ing. Diego Peñaherrera, Ing. José Camacho. Ing.

Betty Paucar

Fruticultura:

Ing. William Viera, Ing. Pablo Viteri, Ing. Carlos Feicán, Ing. Aníbal Martínez

6. Financiamiento:

- Gasto Corriente Estación Experimental Santa Catalina
- Universidad San Francisco de Quito (USFQ)
- Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA)-USA.
- Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo AECID-ESPAÑA
- FONTAGRO ATN/RF 16678-RG
- Global Malaise Program/Centre for Biodiversity Genomics (CBG)
- University of Guelph-Canadá.

7. Proyectos:

- Proyecto FONTAGRO ATN/RF 16678-RG. “Implementación de un sistema de alerta temprana para un manejo preventivo sustentable del tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans*), como medida de adaptación frente a la variabilidad del cambio climático en Latinoamérica”. Financiamiento FONTAGRO. USD 300 000; Coejecutores: INIA-Chile, INTA-Argentina, IDIAP-Panamá, IICA-Ecuador, INIAP. Año 3 de 4.

- Fortalecimiento de la investigación para mejorar la productividad y calidad de la naranjilla y tomate de árbol, en el Ecuador. Financiamiento AECID. USD 322 500. Inicio Enero 2020, finalización diciembre 2021

8. Socios estratégicos para investigación:

- Centro Internacional de la papa-CIP
- Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA)-USA
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA-Ecuador)
- Universidad Central del Ecuador-UCE
- Universidad Técnica de Cotopaxi-UTC
- Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE
- Ministerio de Agricultura y Ganadería-MAG
- Universidad San Francisco de Quito (USFQ)
- Universidad del Azuay (UDA)
- INTA-Argentina
- INIA-Chile
- Global Malaise Program/Centre for Biodiversity Genomics (CBG), University of Guelph-
Canadá.
- Agencia de Regulación y Control de la bioseguridad y Cuarentena para Galápagos (ABG)

9. Publicaciones generadas en 2021:

Castillo, C., Gallegos Gallegos, P., y Causton, C. (2021). Control Biológico en Ecuador Continental y en las Islas Galápagos. Capítulo 13. Control biológico en América Latina y el Caribe: Su rica historia futuro brillante. van Lenteren, J.C., Bueno, V.H.P., Luna, M.G. y Colmenarez, Y.C. (eds.). Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. ISBN: 978-84-200-1265-0 [https://www.iobc-](https://www.iobc-global.org/news_Book_Control_Biologico_en_America_Latina_y_el_Caribe.html)

[global.org/news_Book_Control_Biologico_en_America_Latina_y_el_Caribe.html](https://www.iobc-global.org/news_Book_Control_Biologico_en_America_Latina_y_el_Caribe.html)

Castillo, C., Satta, E., Feduzi, G., & Bertaccini, A. (2021). Molecular detection of phytoplasmas in potato psyllids in Ecuador. *Phytopathogenic Mollicutes*, 11(1), 51-58.

Castillo, C. y Cuesta, X. La Producción de Papa en Ecuador se Encuentra Amenazada por un Problema Fitosanitario. *Revista Batata Show*, edición 59.

<http://www.abbabatabrasileira.com.br/site/materias-das-revistas/la-produccion-de-papa-en-ecuador-se-encuentra-amenazada-por-un-problema-fitosanitario/>

Hinojosa, L., Leguizamo, A., Carpio, C., Muñoz, D., Mestanza, C., **Ochoa, J., Castillo, C.,** Murillo, A., Villacréz, E., Monar, C. and Pichazaca, N. (2021). Quinoa in Ecuador: Recent Advances under Global Expansion. *Plants*, 10(2), p.298.

Cuesta X., Peñaherrera D., Velásquez J., Racines M., Castillo C. (2021). Guía de manejo de la punta morada de la papa. Segunda edición. Manual técnico No. 104. Quito (Ecuador). Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 20 p.

<https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5345>

Araujo, A., Cartagena, Y., Castillo, C., Cuesta, X., Monteros, C., Paula, N., Racines, M., Rivadeneira, J. Velásquez, J., Panchi, N., Andrade-Piedra, J. 2021. Manejo Integrado del Cultivo. pp. 17–70. En: M. Racines, X., Cuesta, y C., Castillo (eds.). Manual del cultivo de papa para pequeños productores. 3ra Ed.

Araujo Jaramillo, M., Cartagena Ayala, Y., Castillo Carrillo, C., Cuesta Subía, H., Monteros

Jácome, J., Paula Caicedo, N., Racines Jaramillo, M., Rivadeneira Ruales, J., Velásquez

Carrera, J., León Ruíz, J., Panchi Umaginga, N., Andrade Piedra, J. (2021). Manual del

cultivo de papa para pequeños productores. Manual No. 78, 3ra. Edición. INIAP.

Mejía-Ecuador. 120p.

Castillo, C. I., Llumiquinga, P. J. (2021). Manual para reconocer e identificar al psílido de la

papa (*Bactericera cockerelli* Šulc), en campo y laboratorio. Manual técnico No. 121.

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 40 p

<https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5781>

Castillo, C., Vásquez, M. E., Vásquez, W., Rivadeneira, J. (2021). Determinación de la

resistencia genética de ocho especies silvestres de *Solanum* spp. a *Bactericera*

cockerelli en invernadero, Quito, Ecuador. Memorias del IX Congreso Ecuatoriano de

la Papa. 30 de julio al 1 de junio. <https://www.congresodelapapa.com/>

Tocagón, S., Puma, B., Caipe, Y., Guacán, S., Prado, J., Aragaón, J., Sánchez, I., Panchi, N.,

Castillo, C. (2021). Dinámica poblacional de *Bactericera cockerelli* Šulc en papa

(*Solanum tuberosum* L.) en Imbabura. Memorias del IX Congreso Ecuatoriano de la

Papa. 30 de julio al 1 de junio. <https://www.congresodelapapa.com/>

Pérez, W., Castillo, C., Navarrete, I., Gamarra, H., Arango, E., Naccha, J. y Andrade-Piedra, J.

L. 2021. Cartilla para la identificación de síntomas de la papa manchada (zebra chip).

Serie: Plagas emergentes del cultivo de papa en Latinoamérica. Material de

capacitación 2. Centro Internacional de la Papa (CIP), Instituto Nacional de

Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Servicio Nacional de Sanidad Agraria

(SENASA). Lima, Perú. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/115624>

Pérez, W., Castillo, C., Navarrete, I., Gamarra, H., Arango, E., Naccha, J. y Andrade-Piedra, J.

L. 2021. Cartilla para la identificación de síntomas de la punta morada de la papa.

Serie: Plagas emergentes del cultivo de papa en Latinoamérica. Material de capacitación 3. Centro Internacional de la Papa (CIP), Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA). Lima, Perú. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/115625>

Pérez, W., Castillo, C., Navarrete, I., Gamarra, H., Arango, E., Naccha, J. y Andrade-Piedra, J.

L. 2021. Cartilla descriptiva del psílido de la papa. Serie: Plagas emergentes del

cultivo de papa en Latinoamérica. Material de capacitación 1. Centro Internacional de la Papa (CIP), Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA). Lima, Perú.

<https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/115573>

Viera, W., Viteri, P., Martínez, A., Castillo, C., Peñaherrera, D. (2021). Guía para el

conocimiento de la punta morada del tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.).

Boletín divulgativo No 449. INIAP: Quito, Ecuador. 23 p.

<https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5762/1/Gu%C3%ADa%20de%20punta%20morada%20de%20tom%C3%A1te%20de%20C%C3%A1rbol.pdf>

Rondon, S., Castillo, C., Cuesta, X., Navarro, P., Acuña, Ivette. Problems and solutions in major potato-producing areas of the world Latin America potato production: pests and foes. Chapter X. Insect Pests of Potato; Global Perspectives on Biology and Management. Second Edition. Alyokhin, A., Rondon, S., Gao, Y. (Eds.). Elsevier (in press).

Castillo, C. (2021). Plagas y enfermedades emergentes, nuevos retos para la agricultura, caso punta morada de la papa en Ecuador. In MEMORIAS CONGRESO SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA (p. 4).

Tello, C. 2021. Parámetros de calidad de bioformulaciones con base en hongos benéficos para la agricultura. Memorias V Simposio Fitopatología, Control Biológico e Interacción Planta – Patógeno. USFQ. Quito, Ecuador.

Nagoshi, R., Allauca Vizuete, J., Murúa, G & Garcés-Carrera, S. (2021). Comparisons of fall armyworm haplotypes between the Galápagos Islands and mainland Ecuador indicate limited migration to and between islands. Scientific Reports 11:3457 | <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83111-5>.

Erazo-García, P., Sotelo-Proaño, R., Ramírez-Villacís, D., Garcés-Carrera, S., León-Reyes, A. (2021). Methyl jasmonate-induced resistance to *Delia platura* (Diptera: Anthomyiidae) in *Lupinus mutabilis*. Pest Management Science. <https://doi.org/10.1002/ps.6578>.

10. Participación en eventos de difusión científica, técnica o de difusión:

CARMEN CASTILLO

- Entrevista en el programa Fronteras de la Ciencia de AGROSAVIA de Colombia sobre el problema de PMP en Ecuador. 21 abril del 2021. Disponible en <https://www.facebook.com/watch/?v=227318845853662>
- Conferencia “Manejo Integrado de punta morada” dentro de una serie de seminarios virtuales a nivel regional organizadas por el CIP y su proyecto “Buenas prácticas de agricultura climáticamente inteligente en sistemas agroalimentarios basados en papa”. 11 de mayo del 2021. Participación en el evento del 13 de abril al 8 de junio del 2021.

- Conferencia “El psílido de la papa, *Bactericera cockerelli*, y el problema de punta morada de la papa en Ecuador”. Invitación de la Sociedad Entomológica del Perú. 13 de mayo del 2021.
- Conferencia “Cultivo de la papa: las plagas y los patógenos transmitidos por vectores más relevantes en la actualidad” invitada por el Colegio de Ingenieros Agrónomos de Chimborazo. 21 de junio del 2021.
- Conferencia “Determinación de la resistencia genética de ocho especies silvestres de *Solanum* spp. a *Bactericera cockerelli* en invernadero, Quito, Ecuador” en el IX Congreso Ecuatoriano de la Papa. 30 junio del 2021. Disponible en <https://www.congresodelapapa.com/evento>
- Participación en la reunión anual de la comunidad de práctica de los proyectos financiados por la Fundación McKnight para América Latina. Del 6 al 16 de julio del 2021.
- Participación en el seminario internacional “Nuevos retos para el mejoramiento tecnológico y productivo del sistema de papa en el departamento de Nariño, Colombia” con la conferencia “Avances de investigación de los problemas fitosanitarios más relevantes del cultivo de la papa en Ecuador”. Organizado por AGROSAVIA de Colombia. 11 de agosto del 2021.
- Participación con la conferencia magistral “Plagas y enfermedades emergentes, nuevos retos para la agricultura, caso punta morada de la papa en Ecuador” en el SOCOLEN de Colombia. 1 de septiembre del 2021.
- Participación en el taller “Innovación sistemática para conservación y uso sostenible de la agrobiodiversidad, la acción climática y la inclusión social en Ecuador”. Evento realizado el 7-8 de septiembre del 2021 por el CIP.
- Participación en la capacitación impartida por INIAP a los colegas de AGROSAVIA en Pasto, Colombia. Evento organizado por Agrosavia “Presentación y Transferencia de Resultados para Actores Indirectos”. Conferencias impartidas: “El psílido de la papa *B. cockerelli*: morfología, ecología e interacciones bióticas”, “Patógenos involucrados en la enfermedad

llamada punta morada de la papa en Ecuador”, “Enemigos naturales del psílido de la papa B. *cockerelli*”. 28 de septiembre al 1 de octubre del 2021.

- Conferencia “Plagas emergentes, nuevos retos para la agricultura” impartida en el 2do ciclo internacional de video conferencias de sanidad y protección vegetal “El papel de la mujer en la entomología agrícola” organizada por la Universidad Autónoma Chapingo, México. 14 octubre del 2021.
- Presentación de resultados “Phytoplasmas and Ca. *Liberibacter solanacearum* in Ecuador” en la reunión europea “Phy Lib III meeting”. 18 octubre del 2021.
- Participación en el evento “Online Gathering of the Collaborative Crop Research Program, Farmer-centered research for agroecology. Transforming research, reimagining food systems” de la Fundación McKnight, con la presentación “La mosca soldado negra en los Andes ecuatorianos: sería un elemento clave para una economía circular en el campo?” 25 octubre. Participación en el evento del 25 al 27 de octubre del 2021.

<https://www.ccrp.org/resources/>

- Seminario web “Identificación de la papa manchada, punta morada y el psílido de la papa. Organizado por el CIP, SENASA, INIAP y realizado el 4 de noviembre. Disponible en: <https://cipotato.org/es/eventos/identificacion-papa-manchada-punta-morada-psilido-papa/>
- Organización del curso internacional sobre “Control biológico y la producción de artrópodos como enemigos naturales para el manejo de plagas en agricultura” auspiciado por la Organización Internacional de Control Biológico y la Fundación McKnight. Del 8 al 12 de noviembre del 2021. Conferencias disponibles en <https://andescdp.org/grupo-tematico-manejo-ecologico-de-plagas-y-enfermedades> (en construcción).
- Participación en el taller sobre redacción de informativos para agricultores organizado por la F. McKnight, del 22 al 26 de noviembre del 2021.

JOSÉ OCHOA

- Diversidad, Resistencia y Vulnerabilidad: El Caso de la Mancha Norteña del Maíz en Ecuador
Cathme Mayra¹, Llamatumbi Mayra¹, Cristian Michelena¹, Andrés Pastas¹, Yesenia Inlago¹,
Diego Culqui¹, Jorge Coronel² y José Ochoa^{*3}.

¹Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad central del Ecuador, Quito-Ecuador

²Programa de Cereales. Estación Experimental del Austro. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Gualaceo-Ecuador

³Departamento de Protección Vegetal. Estación Experimental Santa Catalina.

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Mejía-Ecuador

Presentado en: Primer Simposio Ecuatoriano del Maíz.

Organizado por: Universidad San Francisco. Programa nacional del maíz (INIAP)

27-29 octubre del 2021

Quito-Ecuador.

- Experiencia de manejo de *F. oxysporum* y de la enfermedad en frutales nativos
José Ochoa. Departamento de Protección Vegetal. Estación Experimental Santa Catalina.
Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Mejía-Ecuador.
Presentado en: Banana Fusarium Wilt TR4 Combat Strategy in the Andean Region
Organizado por: Universidad Nacional Agraria de La Molina, Perú (IAEA Collaborating Centre)
25 – 28 October 2021

- Strengthening the Planning, Design and Monitoring of the Programme to Support the
Implementation of Strategic Activities for Nuclear Technology and its Applications:
TC Expert Mission to finalize Banana Fusarium Wilt TR4 Combat Strategy in the Andean
Region
Organizado por: Universidad Nacional Agraria de La Molina, Peru (IAEA Collaborating Centre)
25 – 28 October 2021

CRISTINA TELLO

- Webinar: Celebrando a la papa: Avances en investigación y desafíos actuales en la
producción y consumo. Conferencia: “Validación de un sistema de apoyo a la decisión para

el control de tizón tardío de la papa en Ecuador”. Organizado por Proyecto UE-AECID - INIAP.

Fecha: 23 de junio de 2021.

- Curso sobre Control Biológico de garrapatas en ganado vacuno usando hongos entomopatógenos. Conferencia: “Control biológico, desarrollo de bioinsumos y control de calidad” Organizado por ASOGAN e INIAP, EESD. Lugar: ASOGAN, Santo Domingo de los Tsáchilas, 4 de agosto de 2021.
- V Simposio Fitopatología, Control Biológico e Interacción Planta – Patógeno. Conferencia: "Parámetros de calidad de bioformulaciones con base en hongos benéficos para la agricultura”. Organizado por USFQ - Ecuador. Fecha: 16 de septiembre de 2021.
- Curso de Capacitación: Manejo del cultivo de aguacate. Conferencia: Elaboración de bioinsumos en laboratorio y aplicación de *Trichoderma* spp. en campo. Organizado por INIAP - Proyecto KOPIA. Fecha: 15 de octubre de 2021.
- Seminario Virtual: Nuevas herramientas para la evaluación del riesgo fitosanitario y sistemas de ayuda a la toma de decisiones. Conferencia: “Uso del sistema de apoyo a la decisión para control del tizón tardío en Ecuador”. Organizado por AGROSAVIA – Colombia. Lugar: Prov. Bolívar. Fecha: 20 de octubre de 2021.

SANDRA GARCÉS

- Nagoshi, R., Cañarte, E., Navarrete, B., Pico, J., Bravo, C., Arias de López, M., Garcés-Carrera, S. (Enero 2021). The genetic characterization of fall armyworm populations in Ecuador and its implications to Migration and pest management in the northern regions of South America. En D. Sinha, (Director). Conferencia presentada en el Webinar Internacional "The Science of Nature and Natural Phenomenon", organizado por la Universidad de SAGE, Indore-India.
- Nagoshi, R., Cañarte, E., Navarrete, B., Pico, J., Bravo, C., Arias de López, M., Garcés-Carrera, S. (Marzo 2021). The genetic characterization of fall armyworm populations in

Ecuador and its implications to Migration and pest management in the northern regions of South America. En D. Inclán (Presidencia). Evento virtual: “Mujeres en la Entomología Latinoamericana. Recuento de sus aportes Científicos”, organizado por las Sociedades de Entomología de Ecuador y México, con el auspicio de La Federación Entomológica Latinoamericana (FELA) y El Instituto Nacional de Biodiversidad (INABIO), Quito, Ecuador.

- Nagoshi, R., Cañarte, E., Navarrete, B., Pico, J., Bravo, C., Arias de López, M., Garcés-Carrera, S. (Octubre 2021). The genetic characterization of fall armyworm populations in Ecuador and its implications to Migration and pest management in the northern regions of South America. En J. Zambrano (Coordinador). I Simposio Ecuatoriano del Maíz, modalidad virtual, organizado por INIAP, USFQ, CIMMYT, CYTED, Red Latinoamericana del Maíz, ECUAQUIMICA. Quito, Ecuador.
- Garcés-Carrera, S. (Septiembre 2021). Resultados del proyecto: Reducción del uso y desarrollo de resistencia a plaguicidas en el cultivo de fréjol en Colombia, Venezuela y Ecuador. FONTAGRO 438/05. En M. Lara (Director). Capacitación realizada de manera presencial en el Taller de Fortalecimiento de Capacidades Técnicas a los Técnicos del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), provincia de Imbabura Ibarra, Ecuador.
- Garcés-Carrera, S. (Octubre 2021). Resultados del proyecto: Caracterización genética de poblaciones de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith). En M. Lara (Director). Capacitación realizada de manera presencial en el Taller de Fortalecimiento de Capacidades Técnicas a los Técnicos del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), provincia de Imbabura Ibarra, Ecuador.
- Garcés-Carrera, S. (Septiembre 2021). Capacitación sobre los objetivos y actividades del proyecto: Caracterización del manejo poscosecha de maíz y fréjol en Ecuador. En M. Lara (Director). Capacitación realizada de manera presencial a los Técnicos del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), provincia de Imbabura Ibarra, Ecuador.

- Garcés-Carrera, S. (Septiembre 2021). Capacitación sobre los objetivos y actividades del proyecto: Caracterización del manejo poscosecha de maíz y fréjol en Ecuador. En M. Lara, E. Mayorga, R. Gusqui (Directores). Capacitación realizada de manera presencial a los Técnicos del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), de las provincias de Imbabura, Bolívar y Chimborazo. Ecuador.
- Garcés-Carrera, S. (Octubre 2021). Capacitación sobre los objetivos y actividades del proyecto: Caracterización del manejo poscosecha de maíz y fréjol en Ecuador. En P. Jerves, J. Ojeda (Directores). Capacitación realizada de manera presencial a los Técnicos del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), de las provincias de Azuay y Loja. Ecuador.

11. Propuestas presentadas:

Propuesta 1.

Título: Fortalecimiento de las capacidades tecnológicas de los actores de la cadena de la papa en el manejo del riesgo fitosanitario del complejo punta morada en Colombia y Ecuador con énfasis en la zona fronteriza.

Tipo propuesta: Proyecto

Fondos o Convocatoria: STDF

Fecha presentación: Noviembre 2021

Responsable: Nancy Barreto (Agrosavia, Colombia; Carmen Castillo (INIAP, Ecuador)

Equipo multidisciplinario: Agrosavia, INIAP

Presupuesto: USD 999 934

Duración proyecto: Tres años

Estado: Negado

Propuesta 2.

Título: Strengthening of technological capacities to improve the management of potato purple top complex in Ecuador

Tipo propuesta: Actividades

Fondos o Convocatoria: HORIZON-CL6-2022-FARM2FORK 02-02-two-stage: Emerging and future risks to plant health

Fecha presentación: diciembre 2021

Responsable: Carmen Castillo (DNPV), Xavier Cuesta (PNRT)

Equipo multidisciplinario: Expertos europeos en fitoplasmas y *Ca. Liberibacter*.

Presupuesto: USD 160 000

Duración proyecto: 2 años

Estado: Elaboración de propuesta

Propuesta 3.

Título: Desarrollo de estrategias de manejo integrado de la “punta morada” de solanáceas (papa, tomate de árbol, naranjilla y uvilla).

Tipo propuesta: Proyecto

Fondos o Convocatoria: FIASA

Fecha presentación: Julio 2021

Responsable: Carmen Castillo

Equipo multidisciplinario: DNPV, PNRT, PF, Economía Agrícola, DNB, Producción de Semillas, Transferencia de Tecnología

Presupuesto: USD 495 538.40

Duración proyecto: 48 meses

Estado: Enviado

Propuesta 4.

Título: Determinación y evaluación de la transmisión de *Candidatus Liberibacter solanacearum* a través de injertos y semilla en papa.

Tipo propuesta: Actividades

Fondos o Convocatoria: CIP-RTB

Fecha presentación: diciembre 2020 – diciembre 2021

Responsable: Carmen Castillo

Equipo multidisciplinario: DNB, Marcelo Vinueza, Heidy Gamarra, Jan Kreuze, Jorge Andrade (CIP), Viviana Rivera y Gary Secor (NDSU)

Presupuesto: USD 31 360

Duración proyecto: 12 meses

Estado: Ejecutado

Propuesta 5.

Título: Participatory baseline study on technical, environmental and socio-economic feasibility of BSF rearing in the Ecuadorian highlands of Cañar and Chimborazo

Tipo propuesta: Proyecto

Fondos o Convocatoria: Fundación McKnight

Fecha presentación: Diciembre 2020

Responsable: Lorena Medina (IICA)

Equipo multidisciplinario: Carmen Castillo, Víctor Barrera, David Hidalgo, César Asaquibay, Fausto Yumisaca, Hernán Lucero (INIAP), Helena Espana (EPN), Nicolas Pichasaca (Asociación Mushuk Yuyay, Cañar), Antonio Criollo (Asociación Paccha, Chimborazo), Claire Nicklin, Roberto Ugas, Sergio Larrea (F. McKnight).

Presupuesto: USD 42 000

Duración proyecto: Octubre 2021 a septiembre 2022

Estado: Aprobado

Propuesta 6.

Título: Generación de tecnologías integrales para la producción de cáñamo medicinal e industrial

Tipo propuesta: Proyecto

Fondos o Convocatoria: FIASA

Fecha presentación: Octubre 2021

Responsable: Dr. Jorge Merino Toro (EESC)

Equipo multidisciplinario:

Ph.D. Sandra Garcés Carrera (DNPV)

Ph.D. Yamil Cartagena (DNSyA)

M. Sc. Javier Maiguascha (DNSyA)

Ing. José Luis Rivadeneira (DNSyA)

Ing. Antonio Guacapiña (PGyP)

Ph.D. Iván Samaniego (DNNyC)

Ph.D. Alvaro Monteros (DENREF)

Presupuesto: USD 210 326,15

Duración proyecto: 24 meses

Estado: Presentado

12. Hitos/Actividades por proyecto ejecutadas por el departamento:

Actividad 1. Monitoreo del psílido de la papa *Bactericera cockerelli* y tres especies de polillas de la papa en Ecuador.

Responsable: Carmen Castillo C.

Colaboradores: Nancy Panchi, Heidy Gamarra, Pablo Carhuapoma (CIP).

Memorando aprobación: Nro. INIAP-EESC_DIR-2019-0905-MEM (misma metodología, solo cambian las provincias para el año 2021).

Inicio: Inicio junio 2021, finalización abril 2022.

Subactividad 1. Monitoreo y caracterización molecular del psílido de la papa *Bactericera cockerelli* en las provincias de Chimborazo y Tungurahua.

Responsable: Carmen Castillo C.

Colaboradores: Nancy Panchi (CIP), Carlos Carpio (ESPOCH), 8 estudiantes de pregrado de la ESPOCH: Laura Caranqui, Stalin Cuacés, Stalin Montaguano, Diego Guambo, Jonathan Angulo, Tania Guamán, Eduardo Guamán, Katerine Quisnia

Antecedentes: La papa (*Solanum tuberosum*) es un cultivo de importancia agrícola que forma parte fundamental de la seguridad alimentaria del Ecuador. La producción se ve afectada por plagas que disminuyen el rendimiento en campo y en postcosecha, se ha estimado una disminución de hectáreas sembradas de 47 mil en el 2013 a aproximadamente 22 mil ha en el 2019 (MAG, 2020). Reducción que podría ser efecto de la presencia de punta morada de papa. Recientemente fue reportada la presencia del psílido de la papa *Bactericera cockerelli* Šulc (Triozidae: Homoptera) en Ecuador (Castillo, et al. 2019), insecto que, en otros países, ha sido reportado como vector de

Candidatus Liberibacter solanacearum (CLso), el agente causal del chip ceбра (Munyanza, et al. 2007). A fines del 2019, ya se reporta en Ecuador CLso (Caicedo et al. 2020). Se presume que *B. cockerelli* está involucrado en sintomatología de punta morada de papa en Ecuador.

Para un desarrollo más adecuado de herramientas para el MIP para las plagas en el cultivo de la papa, en particular para el psílido de la papa, el monitoreo con trampas amarillas pegajosas y los conteos de oviposturas y ninfas han sido utilizados para conocer la fluctuación de las poblaciones de plagas y adaptar medidas MIP más adecuadas.

Objetivo: Caracterizar la abundancia y registrar la población de *B. cockerelli* (adultos, ninfas y oviposturas) en el cultivo de la papa en dos provincias (Chimborazo y Tungurahua) de Ecuador.

Metodología: Este estudio se está desarrollando en campos de los agricultores sembrados con papa de dos provincias, Chimborazo y Tungurahua. En cada provincia se seleccionaron los cantones/parroquias según diferentes altitudes (Tabla 1). El monitoreo se está realizando a través de los estudiantes tesistas de la ESPOCH. En estos lotes se evalúan las variables cada 15 días durante un ciclo del cultivo de la papa.

Tabla 1: Localidades donde se realiza el monitoreo del psílido de la papa. Ecuador, 2021-2022.

Provincia	Lugar	Altitud	Latitud	Longitud
Chimborazo				
	Molobog	2 826 msnm	1°46' 10.204'' S	78° 36' 15.71'' W
	Pungalá	2 937 msnm	1° 49' 37.117'' S	78° 35' 28.53'' W
	Puruhuay	3 319 msnm	1° 51' 25.236'' S	78°35' 27.74'' W
	Saguazo	3 637 msnm	1°30'34'' S	78°33'42'' W
Santa fe de				
	Galán	3 484 msnm	1°28'51'' S	78°34'06'' W
San Andrés				
	Matus	2890 msnm	98°27'7643 N	77°83'98 W
Candelaria				
	Utñañag	3164 msnm	98°18'464 N	77°73'75 W
Mercedes				
	Cadena	3085 msnm	-1,89974884	-78,7002001
	El Tejar	3522 msnm	-1,94324807	-78,73637865
	Chacaza	3021 msnm	-1,90173544	-78,69503357

Provincia	Lugar	Altitud	Latitud	Longitud
Tungurahua				
	Ipolongo	3368 msnm	98°40'746'' N	76°27' 66'' W
	Rumipamba	3204 msnm	98°42'959'' N	76°31'81'' W
	Yayulihi	3018 msnm	98°43'810'' N	76°40'13'' W
	El Panecillo	3401,65 msnm	1° 43' 78 '' S	78° 66' 06'' W
	La Dolorosa	3450,8 msnm	1° 44' 47 '' S	78° 65' 85'' W
	Barrio El Norte	3278,57 msnm	1° 42' 91'' S	78° 66' 42'' W
	San Isidro	3562 msnm	1° 30' 67 '' S	78° 76' 79'' W
	El Calvario	3451 msnm	1° 30' 17 '' S	78° 74' 10'' W
	Guayarapata	3385 msnm	1° 28' 74'' S	78° 75' 64'' W
	Mulanleo	3440 msnm	1° 17' 34'' S	78° 45' 26'' W
	Chiquikahua	3422 msnm	1° 18' 01'' S	78° 44' 26'' W
	Yatzaputzan	3733 msnm	1° 19' 12'' S	78° 47' 24'' W

Monitoreo

Para el monitoreo de adultos de *B. cockerelli* se colocaron trampas a cinco metros del borde del cultivo, dos por lote. Las trampas de color amarillo de tamaño estándar (23 cm x 14 cm) se colocan sobre una estaca de madera a un metro de altura (Henne et al. 2010). Las trampas se colectan y reemplazan cada 15 días. Para su conservación, se cubre la trampa con una funda plástica transparente para proteger a los insectos adheridos y facilitar su almacenamiento y transporte. Los psílicos serán identificados y contabilizados en el laboratorio por cada estudiante y luego confirmados por el INIAP. Las trampas deben tener las fechas del periodo en el que permanecieron en el campo, el lugar de monitoreo, y las coordenadas geográficas. Los resultados se calcularán a número de psílicos capturados por día (Vereijssen et al. 2015). Dentro del monitoreo con trampas amarillas, se realiza el conteo de enemigos naturales/insectos benéficos y otras plagas en el cultivo de papa. Además, se realizarán colectas de insectos en algunos lotes de monitoreo. Monitoreo de oviposturas: Se seleccionan veinte plantas al azar en un transecto en forma de X en cada lote. En cada planta se contabiliza el número de oviposturas durante cinco minutos (utilizando un cronómetro) (Castillo et al. 2016). Para realizar un conteo adecuado, se divide la planta en cuatro cuadrantes. Se registran los datos en el libro de campo y en el aplicativo EPICOLLECT5.

Monitoreo de ninfas: Se seleccionan veinte plantas al azar en un transecto en forma de X en cada lote. En cada planta se toman dos hojas compuestas de la parte baja de la planta. Se contabilizaron las ninfas (de los estadios ninfales del IV y V estados).

Resultados. Monitoreo: Se encuentran en ejecución hasta el mes de febrero.

Conclusiones y recomendaciones: Se caracterizará la abundancia del psílido de la papa en Chimborazo y Tungurahua, y su relación con la altitud de las zonas muestreadas. En estudios anteriores llevados a cabo en otras provincias, se encontró una correlación negativa entre la altitud y

la población de *B. cockerelli*, mientras que la temperatura no ejerce efecto en la población del psílido. Continuar con el levantamiento de información hasta terminar el ciclo del cultivo de la papa en las localidades seleccionadas de las dos provincias y analizar los resultados del presente estudio para complementar la información obtenida en monitoreos anteriores (desde el 2019) en las provincias de Cotopaxi, Imbabura y Pichincha, para la elaboración de la publicación científica.

Referencias

- Caicedo, J., Simbaña, L., Calderón, D., Lalangui, K., & Rivera-Vargas, L. (2020). First report of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' in Ecuador and in South America. *Australasian Plant Disease Notes*, 15(1), 10–12. <https://doi.org/10.1007/s13314-020-0375-0>
- Castillo Carrillo, C.I., Fu, Z., Jensen, A.S., Snyder, W.E. (2016). Arthropod pests and predators associated with bittersweet nightshade, a noncrop host of the potato psyllid (Hemiptera: Trioziidae). *Environmental Entomology*, 45(4), 873–882. doi:10.1093/ee/nvw072
- Castillo Carrillo, C., Fu, Z., Burckhardt, D. (2019). First record of the tomato potato psyllid *Bactericera cockerelli* from South America. *Bulletin of Insectology* 72 (1): 85-91.
- Henne, D. C., Paetzold, L., Workneh, F., Rush, C. M. 2010. Evaluation of potato psyllid cold tolerance, overwintering survival, sticky trap sampling, and effects of liberibacter on potato psyllid alternate host plants. Proc. 10th Annual Zebra Chip Rep. Session. Dallas, TX, 149-153.
- MAG. 2020. Sistema de Información Pública (SIPA). <http://sipa.agricultura.gob.ec/> diciembre, 2020.
- Munyanza, J. E., Crosslin, J. M., & Upton, J. E. (2007). Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with “zebra chip,” a new potato disease in southwestern United States and Mexico. *Journal of Economic Entomology*, 100(3), 656-663.

Vereijssen, J., Barnes, A. M., Berry, N. A., Drayton, G. M., Fletcher, J. D., Jacobs, J. M. E., ... & Smith, G. R. (2015). The rise and rise of *Bactericera cockerelli* in potato crops in Canterbury. New Zealand Plant Protection, 68, 85-90.

Subactividad 2. Distribución de tres especies de polillas de la papa en Imbabura.

Responsable: Carmen Castillo C.

Colaboradores: Nancy Panchi (CIP), Julia Prado, Mishel Pérez (UTN)

Antecedentes: El cultivo de la papa se ve afectado por plagas y enfermedades que pueden causar disminución en el rendimiento o pérdida total del cultivo. Se reporta la presencia de “la polilla de la papa” como una de las principales plagas (Pollet, et al., 2003). Generalmente se menciona a la polilla, sin embargo se trata de tres especies reportadas en Ecuador: *Phthorimaea operculella* (Po) *Symmetrischema tangolias* (St) y *Tecia solanivora* (Ts) (Pumisacho y Sherwood, 2002). Estas tres especies pertenecen a la Gelechiidae. Su estado larvario se nutre de los tubérculos de la papa causando galerías y daño parcial o total. Los daños que ocasiona esta plaga en el campo y almacenamiento provocan grandes pérdidas económicas (Dangles, et al., 2009). Existen varias prácticas de manejo que se han desarrollado y algunas han permanecido y otros no se han podido mantener a pesar de su validez (Gallegos, et al., 2003, 2005, 2010, 2015; INIAP, 2006; Suquillo et al., 1998; Lucero y Suquillo, 2017). La distribución de las tres especies difiere según su ubicación (Dangles, et al., 2008), como se ha observado y reportado desde el 2018 por el INIAP. Al determinar la prevalencia de una u otra especies, permitirá enfocar y efectivizar las acciones de manejo integrado para combatir estas plagas (Kroschel y Zegarra, 2007). La importancia de este trabajo de investigación se basa en evaluar la dinámica poblacional de las tres especies de polillas de la papa en la provincia de Imbabura. Esta información es complementaria a los estudios realizados en años

anteriores, con lo que se procederá a realizar un estudio más profundo de la dinámica de las poblaciones de las tres especies en tiempo y espacio.

Objetivo: Conocer la distribución de las tres especies de polillas de la papa, *T. solanivora*, *P. operculella* y *S. tangolias* en zonas productoras de papa de Imbabura.

Materiales y métodos: Se utilizaron contenedores de plástico transparente, estacas o tiras de madera para sostener las trampas, alambre para asegurarlas y las respectivas feromonas para cada especie con la siguiente descripción:

T. solanivora - acetato 3-Dodecenil (Isomero E3-12AC 98% y Z3-12-AC 2%)

S. tangolias - 2:1 mezcla de (E, Z)-3,7-tetradecadien-1-ol acetato y (E)-3-tetradecen-1-ol acetato

P. operculella - Componente 1: (E, Z, Z) trans-4, cis-7, cis-10 tridecatrienyl acetato, componente 2: (E, Z) trans-4, cis-7-tricadienyl acetato.

Se colocaron tres trampas en cada lote, una de cada especie de polilla.

Data loggers para medir la temperatura. Se colocaron los dispositivos data logger para registrar los datos de temperatura de la zona más cercana a los sitios seleccionados para los muestreos.

Resultados: Este estudio se desarrolló en los siguientes campos de papa de la provincia de Imbabura: en la localidad El Cielito en el cantón Pimampiro, Yaracruz y La Esperanza en el cantón Ibarra, Muenala en el cantón Otavalo y Ugshapungo en el cantón Cotacachi. En El Cielito (Pimampiro) la cantidad máxima de Ts fue de 370 individuos colectados en un lapso de 15 días por trampa a los 165 días de edad del cultivo (ddc), para St fue de 27 polillas a los 195 ddc y para Po 20 a los 165 ddc. En Yaracruz (Ibarra) para Ts se capturaron 600 individuos a los 190 ddc, para Po 150 polillas a los 75 ddc y para St 124 polillas a los 120 ddc. En La Esperanza (Ibarra), la población de Ts alcanzó su pico de 96 individuos, seguido de St con 84 y Po con 19, todos a los 165 ddc. En Muenala (Otavalo) las poblaciones fueron más bajas, se contabilizaron 52 individuos de Ts, 35 de St y 17 de

Po. Finalmente en ugshapungo (Cotacachi) las poblaciones de Ts alcanzaron los 602 individuos a los 165 ddc, St 127 a los 195 ddc y Po mantuvo una población de 29 polillas desde los 105 a los 240 ddc.

Conclusiones: La especie predominante en todas las localidades fue Ts, seguida por St y Po.

Solamente en la localidad de Yaracruz, la segunda especie dominante es Po mientras que St se ubica en último lugar. Las poblaciones más altas de Ts se presentaron en las localidades de Yaracruz (Ibarra) y Ugshapamba (Cotacachi) llegando a capturarse cerca de 600 adultos machos por trampa (en un lapso de 15 días), entre los 165 a 190 días de edad del cultivo de papa. Esta caracterización en tiempo y espacio de las poblaciones de las tres especies de polillas permitirá dirigir de forma más eficiente herramientas de manejo integrado específicas.

Referencias

- Dangles, O., Carpio, C., Barragan, A., Zeddarn, J., Silvain, J. (2008). Temperature as a key driver of ecological sorting among invasive pest species in the tropical Andes. *Ecological Applications* 18, 1795-1809.
- Dangles, O., Mesías, V., Crespo-Pérez, V., Silvain, J. (2009). Crop damage increases with pest species diversity: evidence from potato tuber moths in the tropical Andes. *Journal of Applied Ecology* 46, 1115-1121.
- Gallegos, P., Asaquibay, C., Williams, R. (2003). Desarrollo de métodos de biocontrol de *Premnotrypes vorax* y polilla Centroamericana de la papa *Tecia solanivora*. En Informe anual 2003 (pp. 25-30). Quito, Ecuador: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, Departamento Nacional de Protección Vegetal.
- Gallegos, P., Asaquibay, C., Chamorro, F., Rodríguez, P., Williams, R. (2005). Asolación de los tubérculos de semilla de papa como método de control para la polilla, *Tecia solanivora*: Una tecnología tradicional para la solución a un nuevo problema. Quito, Ecuador: INIAP, Estación

Experimental Santa Catalina, Departamento Nacional de Protección Vegetal. (Plegable no. 260).

Gallegos, P., Asaquibay, C., Suquillo, J., Sevillano, C. (2010). El huacho apretado para el control de la polilla de la papa en campo. Quito, Ecuador: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, Departamento Nacional de Protección Vegetal. (Plegable no. 361).

Gallegos, P., Asaquibay, C., Villamar, I. (2015). Control químico de polilla de papa *Tecia solanivora* en campo y su efecto en tubérculos semilla en almacenamiento. En Brown, D., Ortega Andrade, S. y Yaguana, G. (Eds.), Memorias del VI Congreso Ecuatoriano de la Papa (pp. 66-68). Ibarra, Ecuador: INIAP/CIP.

INIAP (2006). Colección, identificación, patogenicidad y caracterización ecológica de nematodos parásitos de insectos en gusano blanco *Premnotrypes vorax* y polilla guatemalteca *Tecia solanivora* de la papa en Ecuador. Informe Anual del Departamento Nacional de Protección Vegetal de la Est. Exp. Santa Catalina.

Kroschel, J., Zegarra, O. (2007). Development of an attract-and-kill strategy for the potato tuber moth complex *Phthorimaea operculella* Zeller and *Symmetrischema tangolias* (Gyen) in Peru. Proc XVI Internat Plant Prot Cong, Glasgow, UK, 2, 576-577.

Lucero, H., Suquillo, J. (2017). Evaluación de la eficiencia de protección del bioinsecticida Bacu-Turin al ataque del complejo de polillas, en sistemas de manejo de semilla de papa de los agricultores del cantón Paute. Tesis Maestría, Universidad de Cuenca, Ecuador.

Pollet, A., Barragan, A., Lagnaoui, A., Prado, M., Onore, G., Aveiga, I., Zeddani, J.L. (2003). Predicción de daños de la polilla guatemalteca *Tecia solanivora* (Povolny) 1973 (Lepidoptera: Gelechiidae) en el Ecuador. Plagas, 29, 233-242.

Pumisacho, M., y Sherwood, S. (2002). El cultivo de papa en el Ecuador. Quito: INIAP-CIP.

Suquillo, J., Gallegos, P., Chamorro, F., López, F., Sevillano, C. (1998). Validación de prácticas de control de polilla (*Tecia solanivora*) en tubérculo semilla almacenada. Revista Informativa INIAP, 10, 31-32.

Subactividad 3. Distribución de tres especies de polillas de la papa en las provincias de Chimborazo y Tungurahua.

Responsable: Carmen Castillo C.

Colaboradores: Nancy Panchi (CIP), Carlos Carpio (ESPOCH), 8 estudiantes de pregrado de la ESPOCH: Laura Caranqui, Stalin Cuacés, Stalin Montaguano, Diego Guambo, Jonathan Angulo, Tania Guamán, Eduardo Guamán, Katerine Quisnia

Objetivo: Conocer la distribución de las tres especies de polillas de la papa, *T. solanivora*, *P. operculella* y *S. tangolias* en zonas productoras de papa en Chimborazo y Tungurahua.

Materiales y métodos: Se utilizaron contenedores de plástico transparente, estacas o tiras de madera para sostener las trampas, alambre para asegurarlas y las respectivas feromonas para cada especie con la siguiente descripción:

T. solanivora - acetato 3-Dodecenil (Isomero E3-12AC 98% y Z3-12-AC 2%)

S. tangolias - 2:1 mezcla de (E, Z)-3,7-tetradecadien-1-ol acetato y (E)-3-tetradecen-1-ol acetato

P. operculella - Componente 1: (E, Z, Z) trans-4, cis-7, cis-10 tridecatrienyl acetato, componente 2: (E, Z) trans-4, cis-7-tricadienyl acetato. En cada lote seleccionado se colocó una trampa de cada especie de polilla.

Data loggers para medir la temperatura. Se colocaron los dispositivos data logger para registrar los datos de temperatura de la zona más cercana a los sitios seleccionados para los muestreos.

Este estudio se está desarrollando en campos de los agricultores sembrados con papa de dos provincias, Chimborazo y Tungurahua. En cada provincia se seleccionaron los cantones/parroquias según diferentes altitudes, las mismas localidades de la subactividad 1 (Tabla 1). El monitoreo se está

realizando a través de los estudiantes tesis de la ESPOCH. En estos lotes se evalúan las variables cada 15 días durante un ciclo del cultivo de la papa.

Resultados: Las polillas de la papa son plagas establecidas en todo el callejón interandino donde se cultiva papa, que si no se toman acciones de control, estas plagas pueden causar pérdidas totales del cultivo. Se confirma la presencia de las tres especies en todos los lugares muestreados. Las feromonas utilizadas fueron adquiridas en el Perú y traídas con fines de investigación, lastimosamente, parece que hubo un error y en lugar de enviar feromonas de *St* ya que las polillas que fueron capturadas en las trampas pertenecen a la especie *Tuta absoluta* (corroborado por Agrocalidad). Lastimosamente debido a la pandemia, no se pudo detectar este problema a tiempo para reponer la feromona y se perdió la oportunidad de obtener la información sobre *St* en este período de muestreo. La información obtenida todavía no ha sido procesada ya que quedan varios monitoreos por realizar hasta aproximadamente el mes de marzo del 2022. Los datos preliminares no dan una información concluyente del comportamiento de las poblaciones en tiempo y espacio. Sin embargo, en algunas localidades se puede observar que predomina *Ts* como en Utuñag, Chimborazo (Figura 1) o *Po* en Mulanleo, Tungurahua (Figura 2).

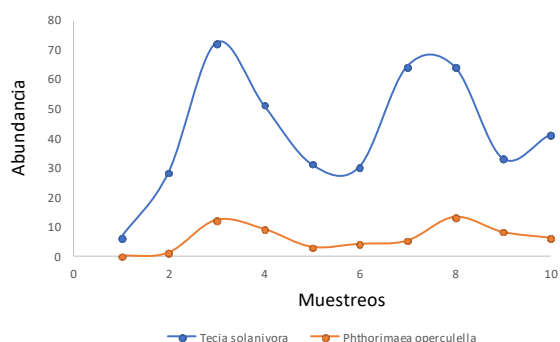


Figura 1. Fluctuación de dos especies de polilla de la papa, registradas en Utuñag (Chimborazo) del 20 de julio al 22 de septiembre de 2021.

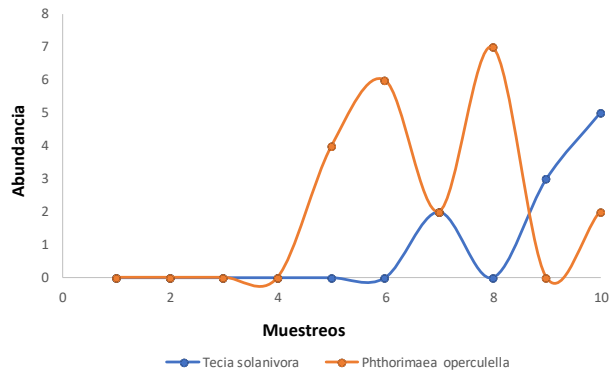


Figura 2. Fluctuación de dos especies de polilla de la papa, registradas en Mulanleo (Tungurahua) del 23 de julio al 4 de septiembre de 2021.

Conclusiones y recomendaciones: En estudios realizados en estas dos provincias conjuntamente en Bolívar y Cotopaxi se determinaron las fluctuaciones y predominancia de las especies de polillas. Se caracterizará la abundancia de las especies de polillas de la papa en Chimborazo y Tungurahua, y su relación con la altitud y temperatura de las zonas muestreadas. Se continuará con el levantamiento de información hasta terminar el ciclo del cultivo de la papa en las localidades del estudio y se realizarán análisis con la información de años pasados para la elaboración de la publicación científica respectiva.

Actividad 2. Determinación y evaluación de la transmisión de *Candidatus Liberibacter*

solanacearum a través de injertos y semilla en papa.

Responsable: Carmen Castillo C.

Colaboradores: Marcelo Vinueza, Heidi Gamarra, Jan Kreuze, Jorge Andrade, (CIP), Gary Secor, Viviana Rivera (NDSU), Brando Flores (ESPE), DNB.

Memorando aprobación: Memorando Nro. INIAP-EESC_DIR-2021-0093-MEM

Inicio: Inicio diciembre 2020, finalización diciembre 2021.

Introducción: El cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en la sierra andina ecuatoriana es una de las principales actividades económicas de la región. A nivel nacional, la productividad de este cultivo tiene un rendimiento promedio aproximado de 16 toneladas por hectárea, con una predominancia de la variedad superchola (SIPA, 2019). El cultivo de la papa enfrenta problemas causados por factores bióticos (patógenos e insectos-plagas) y abióticos (sequía, bajas temperaturas) (Cuesta, et al., 2015). Enfermedades emergentes como la punta morada y el “chip zebra” han sido reportadas en países productores de papa como Estados Unidos, México, entre otros (Crosslin, et al., 2011, Santos et al., 2010, Secor et al. 2009, Munyaneza et al. 2010, Munyaneza et al. 2007a, b). En

Ecuador, la enfermedad de la punta morada de papa (PMP) fue reportada en el 2015 (Rivadeneira et al., 2015). Se ha identificado la presencia de dos fitoplasmas, *Candidatus Phytoplasma aurantifolia* del grupo 16SII (Caicedo et al., 2015) y otro fitoplasma del grupo 16SrIF (Castillo et al., 2018). Recientemente se identificó la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CaLso) en plantas con síntomas de PMP en Ecuador (Caicedo et al., 2020). Además, se identificó la presencia de *Bactericera cockerelli* (Šulc) en Ecuador (Castillo et al., 2019). Organismos que podrían estar estrechamente relacionados a la sintomatología de PMP en el campo. El psílido de la papa y tomate *B. cockerelli* ha sido una de las principales plagas reportadas causando daño en los cultivos de solanáceas durante los últimos años en América del Norte y Centroamérica. *B. cockerelli* es responsable de la transmisión de patógenos como CaLso en Estados Unidos y también fitoplasmas en México, en cultivos de papa, tomate, entre otros, y de producir daños durante su alimentación por un efecto tóxico (Munyanza et al., 2007a, b; Bujano y Ramos, 2015; Almeyda et al., 2008). En el campo, las plantas afectadas con PMP presentan un amplio rango de síntomas asociados con fitoplasmas y CaLso, como clorosis, coloración púrpura de las hojas, abarquillamiento, tallos en zigzag, entrenudos cortos, nudos ensanchados, entre otros. Se han reportado síntomas exclusivos del chip cebrado como la no brotación o una brotación ahilada y la coloración parda de los haces vasculares del tubérculo en un patrón definido (Secor et al., 2009). Adicionalmente, se observan síntomas como arrocetamiento de la parte apical, escobas de bruja, entre otros, que son característicos del efecto de fitoplasmas (Bertaccini, et al., 2014) y con brotación de tubérculos provenientes de plantas con síntomas de PMP, como en los casos reportados de la presencia de fitoplasmas en papa según Crosslin et al. (2011). El mismo estudio demuestra que se presentó una frecuencia de transmisión de 4 a 96%. Cabe resaltar que varios autores mencionan que los tubérculos afectados con CaLso no brotan, sin embargo, en un experimento llevado a cabo por Pitman et al., (2011) en Nueva Zelanda, se determinó que un 93% de plantas procedentes de tubérculos positivos para CaLso, fueron asintomáticas pero el 70% de ellas resultó positivo para CaLso con pruebas moleculares. CaLso y fitoplasmas son patógenos limitados al floema de la planta,

son endosimbiontes que no pueden ser cultivados en medios artificiales in vitro, por lo que no se pueden realizar los postulados de Koch (Secor et al., 2009, Munyaneza et al., 2007a, b).

Experimentos preliminares en invernadero demostraron que plantas con la presencia de *B. cockerelli* desarrollaban los síntomas de PMP (Castillo, 2019) y plantas sembradas de tubérculos que procedían de plantas enfermas del campo y mantenidas en completa ausencia de *B. cockerelli* y otros insectos, también presentaron síntomas de PMP (Monteros et al., 2019). Estas pruebas demostraron el efecto de transmisión por semilla y por *B. cockerelli*, sin embargo, no fueron corroboradas o complementadas con análisis moleculares, razón por la cual se propone la presente investigación.

Justificación: La punta morada de la papa es una enfermedad que presenta una incidencia significativa en el cultivo de la papa, y, siendo la variedad Superchola la variedad más sembrada en campos de agricultores, es la más afectada en algunas temporadas de producción. La identificación de los agentes causales de PMP en Ecuador inició con la detección molecular de fitoplasmas y recientemente con la detección de CaLso, y el efecto de *B. cockerelli* como vector, factores bióticos que podrían estar involucrados en la sintomatología. Por esta razón, y al no poder realizar los postulados de Koch por ser microorganismos no cultivables en medios artificiales, se necesitan replicar síntomas de PMP mediante experimentos y demostrar que dichos factores bióticos están involucrados en la sintomatología de PMP en el cultivo de la papa.

Las pruebas propuestas en esta investigación darán mayor claridad a la asociación de la sintomatología con algunos de los posibles factores bióticos involucrados. Se plantean realizar dos experimentos en invernadero que involucran transmisión por injertos y transmisión por tubérculos semilla de papa, resultados que serán evaluados mediante pruebas de tinción de tejidos vegetales y caracterización molecular de los fragmentos de ADN de las plantas y de los insectos involucrados.

Objetivos: Determinar y evaluar la transmisibilidad de fitoplasmas y CaLso asociados con la sintomatología de PMP en invernadero.

Específicos:

1. Evaluar la transmisión de CLso mediante injertos.
2. Evaluar la transmisión de CLso a través de la siembra de tubérculos de plantas enfermas provenientes de campo.

Metodología:

Ubicación: Los experimentos y los análisis moleculares se realizaron en los invernaderos y laboratorios de la EESC y del CIP.

Experimento No. 1. Transmisión de CLso a través de injertos.

En el experimento se utilizaron plantas de 3-4 meses de desarrollo en macetas (20.32 cm) en el invernadero, se analizaron molecularmente para determinar que estuvieron libres de CLso antes de realizar los injertos. Los injertos fueron ramas de plantas maduras que presentaron síntomas en campo, colectadas en la provincia de Pichincha. Las ramas se trataron con insecticida para evitar traer al invernadero cualquier insecto del campo. Las plantas injertadas fueron cuidadas hasta la cosecha. Pasada la floración se tomaron las muestras de la hoja más jóvenes que estuvieron completamente abiertas. Se tomó la nervadura central y el peciolo. Las variables fueron tomadas después de 10 días de realizado el injerto para observar los síntomas de PMP.

Factores en estudio: Injertos (sanos y enfermos)

Efecto del injerto de plantas enfermas a plantas de papa sanas. El injerto fue realizado con material con síntomas de campo y material sano (testigo).

Observaciones: 20 plantas de papa con injerto positivo para CaLso y 20 plantas injertadas con material sano.

Análisis estadístico: Análisis Probit, con variable independiente dicotómica (injerto), dependiente (Transmitió CLso o no).

Unidad experimental: una planta de papa.

Experimento No. 2. Transmisión de CLso mediante tubérculo semilla.

Para este experimento se cosecharon tubérculos de plantas enfermas con síntomas de PMP de lotes ubicados en Pichincha, de la variedad Superchola e I-Suprema. La cosecha se realizó en forma individual por planta, sin mezclar los tubérculos. Luego de la brotación, que durante los meses de resguardo domiciliario por la pandemia, se sembraron los tubérculos en macetas. Cuando las plantas se desarrollaron y cosecharon, se tomaron algunas de las variables propuestas.

Análisis estadístico: Se hará una prueba de Chi cuadrado para encontrar el porcentaje de infección del patógeno, donde se determinará la transmisión del patógeno por tubérculo. Se obtendrán porcentajes para determinar el grado de transmisión por tubérculos. Se realizarán análisis moleculares de todas las plantas que se desarrollen de los tubérculos brotados

Unidad experimental: una planta

Variables en estudio

Incidencia y severidad de PMP

Se evaluaron los síntomas de PMP a partir de los 10 días de realizados los injertos en el experimento No. 1. En el experimento No. 2 se tomaron lecturas de las variables hasta senescencia.

Incidencia: Se observaron y registraron los síntomas foliares, y se calculó el porcentaje de incidencia. La incidencia de PMP se expresará en porcentaje de número de plantas afectadas con síntomas de PMP.

Severidad: Para la severidad de PMP se utilizó una escala de 1 a 5, donde:

- (1) Ausencia de enfermedad
- (2) Aparición de tonalidad amarilla o morada en la parte aérea de la planta
- (3) Producción de brotes anormales de las yemas axilares y/o engrosamiento de tallos y/o acortamiento de los entrenudos
- (4) Enrollamiento de los folíolos y/o producción de tubérculos aéreos, tonalidad púrpura

(5) Marchitez de la planta con tonalidad amarilla a morada, necrosis vascular en los tallos y muerte prematura de la planta (modificado de López, 2007).

Emergencia: Dentro del experimento No. 2, los tubérculos brotados fueron sembrados y se evaluó la emergencia entre los 40 – 50 días después de la siembra se contó el número de plantas emergidas, y se expresó en porcentaje, modificado de Cuesta et al. (2015).

Altura de planta: Dentro del experimento No. 2, se registró la altura de la planta en centímetros desde el suelo hasta el ápice de la planta. Esta variable se tomó cuando la planta terminó floración.

Número y peso de tubérculos por planta: A la cosecha de las plantas del experimento No. 2, se registró el número de tubérculos por planta y su peso en kilogramos por planta.

Análisis moleculares: De los dos experimentos se tomaron muestras de tejido vegetal (peciolos y nervadura central de la hoja abierta más joven) para realizar las extracciones de ADN, antes y después de los experimentos. Se determinará la presencia o ausencia de los patógenos principalmente por la presencia de bandas en los PCR y con la información obtenida mediante secuenciaciones.

CLso: Se tomaron muestras de las plantas de los experimentos para los análisis moleculares para CLso con varios protocolos (Secor et al., 2009), como se describe brevemente a continuación.

Extracción de ADN y procedimiento de PCR: Los tejidos de peciolos y nervaduras de hojas, serán macerados en bolsas de muestra BioReba con solución tampón TE y extractor Kingfisher (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA) o mediante el Mini Kit DNeasy Plant (Qiagen, Valencia, CA) con 200 mg de tejido, siguiendo las indicaciones recomendadas por los fabricantes. La concentración y calidad del ADN total se estimó con un espectrofotómetro de microvolumen (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE). Los PCR se realizaron con cebadores específicos de CaLso de acuerdo con el protocolo y las condiciones recomendadas por Liefing et al., (2009). La amplificación por PCR fue en una proporción de 25:1 volúmenes con premezcla y 0.25 ul de cebadores OA2 y O12c, con las siguientes condiciones de ciclos de temperatura: un ciclo inicial a 94 °C durante 5 min, seguido de 40 ciclos de 94 °C durante 30 s, 65 °C durante 30 s y 72 °C durante 1 min, más un ciclo final de 10 min a

72 °C. También se utilizaron los cebadores CLi.po.F (5'- TACGCCCTGAGAAGGGGAAAGATT-3') y O12c.

Los parámetros del ciclo de temperatura serán 94 °C durante 1 minuto seguido de 30 ciclos de 95 °C durante 5 s y 68 °C durante 30 s. Los productos de PCR se visualizaron por electroforesis en un gel de agarosa al 1,5 % (Crosslin et al., 2011; Liefting et al., 2019). Los productos se purificaron según las instrucciones del kit.

Para la detección de fitoplasmas se utilizaron los cebadores P1/P6, R16F2n/R16R2 y 16R758F (M1) /16S123r (M2) (Deng y Hiruki, 1991; Lee et al., 1998; Gibb et al., 1995; Protocolo definido por NDSU, Tabla 3). También explicados por la EPPO (ver Bulletin OEPP/EPPO, PM7/133 (1) Generic detection of phytoplasmas (2018, 48(3), 414-424)).

Tabla 3. Condiciones de PCR para fitoplasmas (Protocolo definido por NDSU).

Direct PCR				Phyto P1 - P6		
Phytoplasmas (P1/P6) 1800bp				Steps	Temp	Time
Reagent			1 Rx µl	1	95	2 Min
Buffer + 1.5mM MgCl ₂	5X	1X	5	2	95	1 Min
dNTPs	10mM	0.2 mM	0.5	3	58	1 Min
P1	10 µM	0.5 µM	1.25	4	72	1:30 Min
P6	10 µM	0.5 µM	1.25	5	Go to 2	34 Times
Go Taq	500 U	2 U	0.1	6	72	10 Min
DNA	10ng	20ng	2	7	4	∞
dd H ₂ O			15.0	8	End	

F2n/R2 1200bp				F2n-R2		
(P1-P7 and P1-P6)				Steps	Temp	Time
Reagent			1 Rx µl	1	94	2 Min
Buffer+1.5 MgCl ₂	5X	1X	5	2	94	1 Min
dNTPs	10mM	0.2 mM	0.5	3	55	2 Min
F2n	10 µM	0.5 µM	1.25	4	72	3 Min
R2	10 µM	0.5 µM	1.25	5	Go to 2	34 Times
Go Taq	500 U	2.6 U	0.13	6	72	10 Min
DNA (PCR P1/P7 & P1-P6)	1:40		5	7	4	∞
dd H ₂ O			11.9	8	End	

M1/M2 513bp (P1-P7 & P1-P6)				Phyto M1 - M2		
Reagent			1 Rx μ l	Steps	Temp	Time
Buffer + 1.5mM MgCl ₂	5X	1X	5	1	95	2 Min
MgCl ₂	25 mM	0.5 mM	0.5	2	95	1 Min
dNTPs	10mM	0.2 mM	0.5	3	58	1 Min
M1	10 μ M	0.5 μ M	1.3	4	72	1:30 Min
M2	10 μ M	0.5 μ M	1.3	5	Go to 2	34 Times
Go Taq	500 U	2 U	0.1	6	72	10 Min
DNA (PCR P1/P7 & P1-P6)	1:40		3	7	4	∞
dd H ₂ O			13.0	8	End	

Secuenciación y alineaciones: Los resultados están siendo analizados y comparados con las publicadas en el NCBI GenBank. Se utiliza el programa BioEdit v7.2.5 (Hall, 1999). Todas las secuencias se alinean utilizando el algoritmo Clustal W. Se generaron secuencias consenso y se compararon con los datos de las bases de nucleótidos usando la herramienta BLAST.

Manejo específico de los experimentos

Experimento No. 1. Transmisión de CaLso a través de injertos. Se realizaron injertos de plantas que provenían de lotes de papa con síntomas de PMP a plantas de papa provenientes del invernadero automatizado. Las plantas se mantuvieron en invernadero, con la protección de malla antiáfidos en la EESC y en las instalaciones del CIP.

Proceso de transmisión por injertos: Se siguieron las metodologías publicadas por Secor et al., (2009). Los brotes y puntos de crecimiento de los tallos con síntomas de PMP fueron utilizados para ser injertados en las plantas de papa. Las plantas fueron mantenidas en ausencia de insectos dentro de jaulas y del invernadero para confirmar que se transmite el/los agentes de PMP a través de los injertos. Los vástagos en forma de cuña que contenían yemas de hojas terminales o axilares cortadas de tallos de plantas del campo fueron injertados de forma lateral o superior en plantas de papa. Los injertos se mantuvieron unidos con parafilm y las plantas se cubrieron con bolsas de plástico transparente por unos días para mantener la humedad.

Experimento No. 2. Transmisión de CaLso mediante tubérculo semilla: Se cosecharon plantas que presentaron síntomas de PMP en el campo. Se plantaron todos los tubérculos brotaron y se ubicaron

en el invernadero. Se mantuvieron las plantas en el invernadero libres de insectos con controles químicos constantes y dentro de jaulas con mallas antiáfidos.

Resultados: Por razones de la pandemia, algunas de las variables no fueron tomadas, se siguen analizando molecularmente las muestras obtenidas y procesando la información. De una manera general se puede mencionar que los síntomas de PMP fueron observados con mayor severidad en las ramas que fueron injertadas con varetas de patatas enfermas en el experimento uno. En el experimento dos, los síntomas de PMP se produjeron en todas las plantas. Cabe resaltar que no se detectó la presencia del psílido de la papa dentro del invernadero por lo que se descarta la transmisión por vector, concluyendo que los patógenos involucrados en PMP se transmiten por semilla tubérculo de papa. Con la información obtenida se realizarán los informes y publicaciones respectivas.

Referencias

- Almeyda, I., Sánchez J., Garzón J. (2007). Vectors Causal of potato purple top in Coahuila and Nuevo León, México. *Agricultura Técnica en México*. 34:141-150.
- Bertaccini, A., Duduk, B., Paltrinieri, S., & Contaldo, N. (2014). Phytoplasmas and phytoplasma diseases: a severe threat to agriculture. *American Journal of Plant Sciences*, 5:12.
- Bujano, R., Ramos C. (2015). El Psílido de la Papa y Tomate *Bactericera cockerelli*: Ciclo Biológico; la Relación con las Enfermedades de las Plantas y la Estrategia del Manejo Integrado de Plagas en la Región del OIRSA. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria. México. 48 p.
- Caicedo, J., Crizón M., Pozo A., Cevallos A., Simbaña L., Rivera L., Arahana V. 2015. First report of *Candidatus* Phytoplasma aurantifolia (16SrII) associated with potato purple top in San Gabriel-Carchi, Ecuador. *New Disease Reports* 32, 20.
- Caicedo, J. D., Simbaña, L. L., Calderón, D. A., Lalangui, K. P., & Rivera-Vargas, L. I. (2020). First report of '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' in Ecuador and in South America. *Australasian Plant Disease Notes*, 15(1), 6.

- Castillo, C., Paltrinieri S., Buitron J., Bertaccini A. 2018. Detection and molecular characterization of a 16Srl-F phytoplasma in potato showing purple top disease in Ecuador. *Australasian Plant Pathology*. (47) 3.
- Castillo, C., Fu, Z., Burckhardt, D. (2019). First record of the tomato potato psyllid *Bactericera cockerelli* from South America. *Bulletin of Insectology*, 72(1), 85-91.
- Castillo, C. 2019. Potato purple top disease in Ecuador. Fourth International Phytoplasma Working Group Meeting. September 8-12. Valencia, Spain.
[http://valencia2019.ipwgnnet.org/doc/PM%20Vol.%209\(1\)%20June,%202019_web.pdf](http://valencia2019.ipwgnnet.org/doc/PM%20Vol.%209(1)%20June,%202019_web.pdf)
- Crosslin, J. M., Lin, H., & Munyaneza, J. E. (2011). Detection of 'Candidatus Liberibacter Solanacearum' in the potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Sulc) 1, by conventional and real-time PCR. *Southwestern Entomologist*, 36(2), 125-135.
- Cuesta X., Rivadeneira J., Monteros C. (2015). Mejoramiento Genético de papa: Conceptos, procedimientos, metodologías y protocolos. Quito (Ecuador), Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, 62p.
- Deng, S., & Hiruki, C. (1991). Amplification of 16S rRNA genes from culturable and non-culturable Mollicutes. *J Microbiol. Meth.*, 14, 53–61.
- Gibb, K.S., Padovan A.C., & Mogen B.D. (1995). Studies on sweet potato little-leaf phytoplasma detected in sweet potato and other plant species growing in Northern Australia. *Phytopathology*, 85, 169-174.
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98.
- Lee, I.M., Gundersen-rindal, D.E., Davis, R.E., & Bartoszyk, I.M. (1998). Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 48, 1153–1169.

- Liefting, L. W., Weir, B. S., Pennycook, S. R., & Clover, G. R. (2009). '*Candidatus Liberibacter solanacearum*', associated with plants in the family Solanaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(9), 2274-2276.
- López, A. (2007). Factores abióticos y su relación con el síndrome de la punta morada de la papa. Tesis Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Coahuila, México. P 55.
- SIPA. (2018). Sistema de Información Pública Agropecuaria. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Rendimientos de papa en el Ecuador. Recuperado de:
sipa.agricultura.gob.ec/index.php/informe-de-rendimientos-objetivos/rendimiento-de-papa
- Monteros, C., Velásquez, J., Castillo, C. (2019). Estudio de la transmisión de Punta Morada (PMP) a través de tubérculo-semilla. Informe anual del PNRT. Documento interno. EESC, Quito (Ecuador), Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.
- Munyanza, J., Crosslin, J., Upton, J., & Buchman, J. (2010). Incidence of the beet leafhopper-transmitted virescence agent phytoplasma in local populations of the beet leaf hopper, *Circulifer tenellus*, in Washington State. *Journal of Insect Science*, 10(1), 18.
- Munyanza, J. E., Crosslin, J. M., & Upton, J. E. (2007a). Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with "zebra chip," a new potato disease in southwestern United States and Mexico. *Journal of Economic Entomology*, 100(3), 656-663.
- Munyanza, J. E, Goolsby, J. A, Crosslin, J. M, & Upton, J. E. (2007b). Further Evidence that Zebra Chip Potato Disease in the Lower Rio Grande Valley of Texas is Associated with *Bactericera cockerelli*. *Subtropical plant science*, 59, 30.
- Pitman, A. R., Drayton, G. M., Kraberger, S. J., Genet, R. A., & Scott, I. A. (2011). Tuber transmission of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' and its association with zebra chip on potato in New Zealand. *European Journal of Plant Pathology*, 129(3), 389-398.
- Rivadeneira J., Bolaños C., Garcés S., Tello C., Bonilla V., Ochoa J., Insuasti M., Suquillo J., Orbe K., Cuesta X. (2015). ¿La punta morada de la papa en la sierra norte del Ecuador?. *Memorias del VI Congreso Ecuatoriano de la Papa*. Ibarra, Ecuador. pp. 80-81.

Santos, M., Chávez, J., Acosta, J., Flores G. Méndez, J., Leyva, N. (2010). Genetic diversity and geographical distribution of phytoplasmas associated with potato purple top disease in México. *Plant Disease*. 94:388-395.

Secor, G. A., Rivera, V. V., Abad, J. A., Lee, I. M., Clover, G. R. G., Liefting, L. W., ... & De Boer, S. H. (2009). Association of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' with zebra chip disease of potato established by graft and psyllid transmission, electron microscopy, and PCR. *Plant Disease*, 93(6), 574-583.

Actividad 3. Organización del curso de entrenamiento en “Control biológico y la producción de artrópodos como enemigos naturales para el manejo de plagas en agricultura”

Responsable: Carmen Castillo C.

Fecha: 8-12 de noviembre del 2021

Página web donde se puede acceder a las presentaciones del evento:

<https://andescdp.org/grupo-temático-manejo-ecológico-de-plagas-y-enfermedades>

Antecedentes: En Ecuador y en otras partes de América Latina, existe interés en aplicar el biocontrol en varios cultivos para la seguridad alimentaria y la importancia económica, pero hay pocas o ninguna empresa local que proporcione parasitoides / depredadores para uso agrícola. Por ello, tomamos la iniciativa de organizar un curso de formación en biocontrol con especial atención en la cría masiva de artrópodos benéficos.

Recientemente, fuimos sede de dos congresos, el I Congreso de Biocontrol Aplicado (4 al 6 de octubre de 2018) y el II del 28 al 29 de octubre y del 4 al 5 de noviembre de 2020, en los que 32 (primer congreso) y 30 (segundo congreso) presentaron conferencias y con la participación de más de 220 (congreso 2018) y 2000 (congreso 2020) personas de 28 nacionalidades y con ponentes de 11 nacionalidades. La amplia participación internacional en estos dos congresos muestra el creciente interés en el biocontrol para reducir el uso de agroquímicos en Ecuador y Sudamérica.

Resultados: A finales del 2020, concursamos por el apoyo financiero de la IOBC <https://www.iobc-global.org/> para cursos de capacitación en biocontrol para jóvenes estudiantes y profesionales interesados en control biológico. El curso se realizó en noviembre del 2021 y se centró en la multiplicación masiva de enemigos naturales como parasitoides y depredadores. Por circunstancias de la pandemia, el evento se realizó en modalidad “online” con la participación de 25 expertos nacionales e internacionales que brindaron sus experiencias en control biológico. Los 25 instructores provenían de Colombia, Perú, Uruguay, Chile, Argentina, Brasil, México, España, Italia, Holanda y Ecuador. Además, en la apertura y cierre tuvimos la presencia del presidente actual del IOBC, el Dr. Martin Hill (Universidad Rhodes, Sudáfrica), el anterior presidente el Dr. George Heimpel (Universidad de Minnesota, Estados Unidos) y al presidente de la rama neotropical (NTRS) del IOBC el Dr. Germán Vargas (Cenicaña, Colombia).

El evento fue organizado por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP, Dra. Carmen Castillo), la Universidad Técnica del Norte (UTN, Dra. Julia Prado) y la Universidad San Francisco de Quito (USFQ, Dr. Antonio León) de Ecuador. La IOBC becó a 70 estudiantes ecuatorianos y de la región con la entrega del libro “Control Biológico en América Latina y el Caribe, su Rica Historia y Futuro Brillante” editado por el Prof. Joop van Lenteren (WUR) et al.

https://www.editorialacribia.com/libro/control-biologico-en-america-latina-y-el-caribe_130523/. La Fundación McKnight con su Programa Colaborativo de Investigación sobre Cultivos https://www.mcknight.org/es_pe/programs/international/collaborative-crop-research/ auspició el evento con la plataforma digital y el servicio de traducción simultánea. Además, su página web albergará las conferencias de este curso.

El evento tuvo una duración de 5 días (8-12 de noviembre del 2021), con cinco horas diarias. Se inscribieron alrededor de 2200 personas (Tabla 1) de 26 países (Fig.1). Como público en general, asistieron un promedio de 456 personas por día (Tabla 2, Fig. 2); también los participantes por género en la Tabla 3.

Tabla 1. Número de personas inscritas en el curso de control biológico organizado por Ecuador, 2021.

País	No. Inscritos
Andorra	1
Argentina	78
Bolivia	150
Brasil	8
Canadá	2
Chile	9
Colombia	163
Costa Rica	23
Cuba	2
Ecuador	1277
El Salvador	5
España	4
Guatemala	70
Honduras	11
Mexico	160
Mozambique	1
Holanda	1
Nicaragua	12
Panamá	2
Paraguay	2
Perú	224
República Dominicana	4
Tunisia	1
Uruguay	22
USA	2
Venezuela	4
Total	2238

Figura 1. Número de personas inscritas por país en el curso de control biológico. Se excluyó de la figura el valor de Ecuador. Ecuador, 2021.

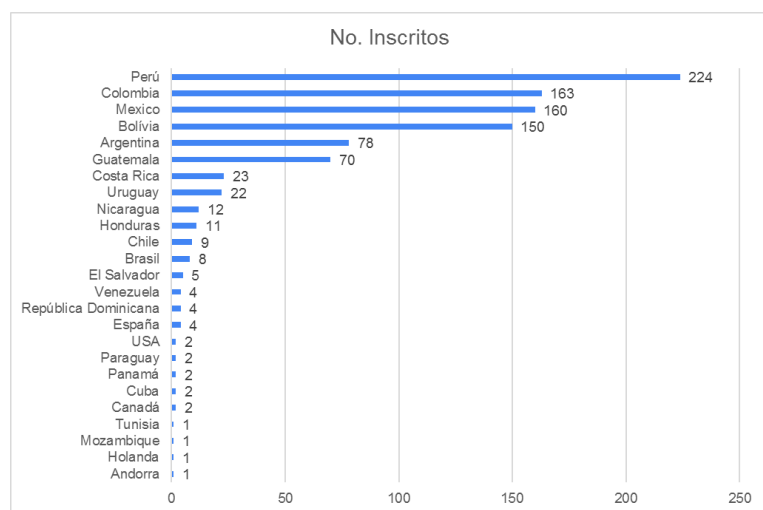


Figura 2 y Tabla 2. Número de participantes por día en el curso de control biológico. Ecuador, 2021.



Fecha	Asistentes
08/11/2021	490
09/11/2021	440
10/11/2021	485
11/11/2021	443
12/11/2021	383
Promedio	456

Tabla 3. Número y porcentaje de participantes por género.

GÉNERO	PARTICIPANTES	PORCENTAJE %
HOMBRE	564	50,13
MUJER	561	49,87
TOTAL	1125	100

Dentro de los estudiantes y jóvenes profesionales becados, participaron mujeres en un 61% y hombres en un 39%. Los estudiantes becados pertenecen a 13 universidades ubicadas en 10 provincias del Ecuador (Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Loja, Los Ríos, Guayas, Napo, Pastaza). Ocho universidades de la Sierra, tres de la Costa y dos de la Amazonía.

El curso tuvo como objetivo capacitar a jóvenes con carreras afines a la agronomía en biocontrol en el uso de artrópodos como agentes de control biológico, tanto depredadores como parasitoides de plagas agrícolas. Este evento es una importante herramienta de capacitación para fortalecer el uso del biocontrol en la agricultura en Ecuador y la región de América del Sur, en especial sobre metodologías de multiplicación, investigación-experimentación y aplicación de programas de

biocontrol. La participación de expertos nacionales e internacionales en estos temas permitió un enriquecedor intercambio de experiencias y conocimientos específicos en diferentes sistemas agrícolas. La aplicación del control biológico en la agricultura es de beneficio para el medio ambiente y la producción de alimentos saludables por lo que su promoción es fundamental en la actualidad.

El informe completo del evento que contiene los testimonios de los estudiantes becados por el IOBC estará disponible en el repositorio online de la EESC del INIAP.

Objetivos del curso

1. Analizar el alcance del biocontrol en la producción agrícola en América Latina.
2. Presentar técnicas de multiplicación de artrópodos y métodos de control de calidad para enemigos naturales producidos en masa.
3. Conocer la normativa nacional e internacional para el uso de agentes de biocontrol e intercambio internacional de especies enemigas naturales.

Lista de instructores y agenda

Instructor	Afiliación	País
Martin Hill	Rodhes University; presidente IOBC-Global	Sudáfrica
George Heimpel	U. of Minnesota; expresidente IOBC-Global	Estados Unidos
Joop van Lenteren	Wageningen University and Research Centre; secretario IOBC-Global	Países Bajos
Julia Prado	Universidad Técnica del Norte	Ecuador
Antonio León	Universidad San Francisco de Quito	Ecuador
Santin Gravena	UNESP-Jaboticabal-SP (retirado)	Brasil
Piedad Linganco	Universidad Central del Ecuador	Ecuador

Jorge Espinoza	Productor independiente	Ecuador
Vanda Bueno	Universidad de Lavras	Brasil
Javier Calvo	Koppert	España
Danilo Pedrazzoli	Koppert	Brasil
César Basso	Universidad de la República	Uruguay
Guillermo Cabrera	Fundación para el estudio de especies invasivas FuEDEI	Argentina
Jan van der Blom	Servicio de extensión de Almería	España
María Manzano	UNAL Palmira	Colombia
Yolanda Gutiérrez	Ingenio del Cauca	Colombia
Yelitza Colmenárez	CABI; expresidenta IOBC-NTRS	Brasil
María Luisa Dindo	Universidad de Boloña	Italia
Takumasa Kondo	Agrosavia	Colombia
Regiane Oliveira	U.Estatal Paulista Julio de Mesquita Filho	Brasil
Carmen Salcedo	SENASA	Perú
Gonzalo Martínez	INIA	Uruguay
Marta Rodríguez	Biobichos	Chile
Julio Velázquez	Koppert	México
Germán Vargas	Cenicaña; presidente IOBC-NTRS	Colombia



Agenda

Noviembre

Hora (Ecuador)	Lunes 8	
	Moderadora: Carmen Castillo (INIAP)	
8h00 - 8h20	Bienvenida y opening	Dr. Raúl Jaramillo, subdirector del INIAP, Dr. Martin Hill, Rodhes U. South Africa y Dr. George Heimpel, UofM, USA. Presidente actual y presidente anterior, IOBC
8h20 - 8h50	Visión del CB a nivel mundial	Dr. Joop van Lenteren, U. Wageningen, Holanda
8h50 - 9h00	Preguntas	
9h00 - 9h40	Evaluación inicial Qué es el control biológico (CB)	Dra. Julia Prado, U. Técnica del Norte, Ecuador
9h40 - 9h55	Preguntas	
9h55 - 10h00	Receso	
10h00 - 10h40	Historia del CB en Ecuador	Dr. Antonio León, U. San Francisco de Quito, Ecuador
10h40 - 10h55	Preguntas	
10h55 - 11h00	Receso	
11h00 - 11h40	Preservation and augmentation of natural enemies in the Brazilian citriculture - present status	Dr. Santin Gravena, Prof. retirado UNESP-Jaboticabal-SP, Brasil Consultor en GCONCI y KOPPERT
11h40 - 11h55	Preguntas	
11h55 - 12h00	Receso	
12h00 - 12h40	El control biológico de <i>Loerya purchasi</i> en las Islas Galapagos y los pasos necesarios para garantizar un programa exitoso	Dra. Charlotte Causton, F. Charles Darwin y Dra. Piedad Lincango, U. Central del Ecuador
12h40 - 12h55	Preguntas	
12h55 - 13h00	Fin de la jornada	

Hora (Ecuador)	Martes 9	
	Moderadora: María José Romero (UTN)	
8h00 - 8h40	Producción de parasitoides y predadores para control biológico en hortalizas en Ecuador	Ing. Jorge Espinoza, productor independiente, Ecuador
8h40 - 8h55	Preguntas	
8h55 - 9h00	Receso	
9h00 - 9h40	Insectos depredadores en el control biológico aumentativo de plagas: riesgo o realismo?	Dr. Vanda Bueno, U. Lavras, Brasil
9h40 - 9h55	Preguntas	
9h55 - 10h00	Receso	
10h00 - 10h40	Desarrollo y comercialización de agentes de control biológico	Dr. Javier Calvo, Koppert, España
10h40 - 10h55	Preguntas	
10h55 - 11h00	Receso	
11h00 - 11h40	How to position biocontrol agents into the Brazilian extensive agriculture	Dr. Danilo Pedrazzoli, Koppert, Brasil
11h40 - 11h55	Preguntas	
11h55 - 12h00	Receso	
12h00 - 12h40	Antecedentes y realidad del Control biológico aumentativo en Uruguay. Producción masiva de <i>Trichogramma</i> spp.	Dr. César Basso, Universidad de la República, Uruguay
12h40 - 12h55	Preguntas	
12h55 - 13h00	Fin de la jornada	

Hora (Ecuador)	Miércoles 10	
	Moderador: Antonio León (USFQ)	
8h00 - 8h40	Desafíos de la cría de agentes de control biológico de malezas	Dr. Guillermo Cabrera, fundación para el estudio de especies invasivas (FuEDEI) Argentina
8h40 - 8h55	Preguntas	
8h55 - 9h00	Receso	
9h00 - 9h40	Detalles en producción masiva y control de calidad del parasitoides de mosca blanca, <i>Encarsia formosa</i>	Dr. Joop van Lenteren, U. Wageningen, Holanda
9h40 - 9h55	Preguntas	
9h55 - 10h00	Receso	
10h00 - 10h40	Adaptaciones agroecológicas para favorecer el control biológico de las plagas principales en cultivos hortícolas	Dr. Jan van der Blom, Servicio de extensión de Almería, España
10h40 - 10h55	Preguntas	
10h55 - 11h00	Receso	
11h00 - 11h40	Importancia de las plantas en el control biológico: casos de estudio en moscas blancas y áfidos en Colombia	Dra. María R. Manzano, UNAL Palmira, Colombia
11h40 - 11h55	Preguntas	
11h55 - 12h00	Receso	
12h00 - 12h40	Producción masiva de enemigos naturales de plagas en caña	Dra. Yolanda Gutierrez, Ingenio del Cauca,
12h40 - 12h55	Preguntas	
12h55 - 13h00	Fin de la jornada	

Hora (Ecuador)	Jueves 11	
	Moderadora: Julia Prado (UTN)	
8h00 - 8h40	BioProspección versus regulación y su influencia en la utilización del control biológico en América Latina	Dra. Yelitza Colmenárez, CABI, América Latina
8h40 - 8h55	Preguntas	
8h55 - 9h00	Receso	
9h00 - 9h40	Mass rearing of Tachinid parasitoids, antagonist of herbivorous pest insects	Dra. María Luisa Dindo, U. de Bologna, Italia. Grupo de multiplicación de enemigos naturales IOBC
9h40 - 9h55	Preguntas	
9h55 - 10h00	Receso	
10h00 - 10h40	Experiencias en el control biológico de <i>Diaphorina citri</i> y <i>Cyrtosperma multicarinatus</i> : Cría de parasitoides y depredadores	Dr. Takumasa Kondo - AGROSAVIA, Colombia
10h40 - 10h55	Preguntas	
10h55 - 11h00	Receso	
11h00 - 11h40	Biological control strategies with parasitoids in integrated pest management	Dra. Regiane Oliveira, U. E. Paulista Julio de Mesquita Filho, Brasil
11h40 - 11h55	Preguntas	
11h55 - 12h00	Receso	
12h00 - 12h40	Cría de los principales insectos benéficos utilizados en Perú para el control de plagas	Dra. Carmen Salcedo, SENASA, Perú
12h40 - 12h55	Preguntas	
12h55 - 13h00	Fin de la jornada	

Hora (Ecuador)	Viernes 12	
	Moderadora: Carmen Castillo (INIAP)	
8h00 - 8h40	Oportunidades y desafíos para el control biológico aumentativo de plagas forestales en América Latina	Dr. Gonzalo Martínez, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Uruguay
8h40 - 8h55	Preguntas	
8h55 - 9h00	Receso	
9h00 - 9h40	Logros y posibilidades para el control biológico aumentativo en América Latina, visión de la industria	Dra. Marta Rodríguez, Biobios, Chile
9h40 - 9h55	Preguntas	
9h55 - 10h00	Receso	
10h00 - 10h40	Control biológico en México	Dr. Julio Velazquez, Koppert, México
10h40 - 10h55	Preguntas	
10h55 - 11h00	Receso	
11h00 - 11h40	Control Biológico de los barrenadores en caña de azúcar: presente y desafíos futuros	Dr. Germán Vargas, CENICAÑA, Colombia, Presidente IOBC-NTRS
11h40 - 11h55	Preguntas	
11h55 - 12h00	Receso	
12h00 - 12h30	Normativa para el registro de bioplaguicidas	Ing. Sara Barriga, Agrocalidad, Ecuador Dr. Germán Vargas, presidente IOBC-NTRS
12h30 - 12h40	Clausura	Dra. Julia Prado, UTN. Dra. Carmen Castillo, INIAP
12h40 - 12h55	Evaluación final	
12h55 - 13h00	Fin del evento	

Traducción de inglés a español

Flyer:



Control Biológico y la
producción de artrópodos
como enemigos naturales para el
manejo de plagas en agricultura

Aprender la multiplicación masiva de enemigos naturales
para el control biológico de plagas agrícolas

8 al 12
Noviembre 2021
8H00 A 13H00 (Ecuador)
Evento gratuito
→ Registro: bit.ly/3btixdu

PROGRAMA
COMUNITARIO
DE INVESTIGACIÓN
SOBRE CUESTOS
DE INVESTIGACIÓN

USFQ

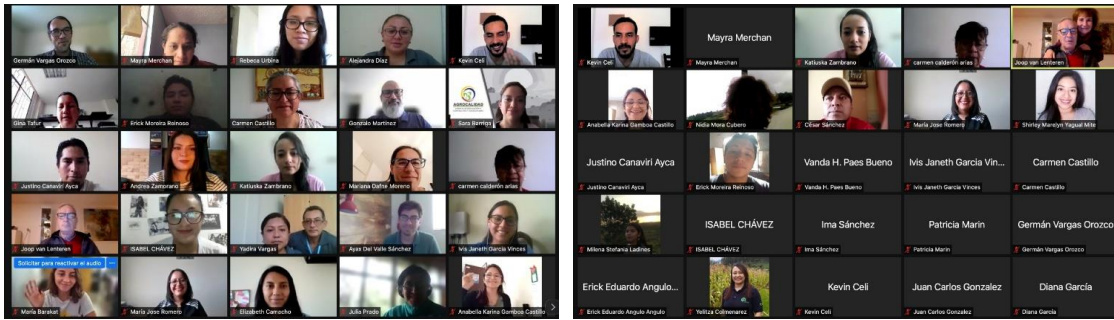
Instituto Nacional de Investigaciones
Agropecuarias

República
del Ecuador

Gobierno
del Encuentro

Juntos
lo logramos

Capturas de pantalla:



Actividad 4.

Estudio de la reacción a enfermedades y productividad del maíz y fréjol en asociación en la Sierra de Ecuador

Responsable: Ing. José Ochoa. Ph.D

Colaboradores: Ing. Miguel Guamán (EEA) e Ing. Angel Murillo (EESC)

Aprobación de protocolo: 30/08/2018

Antecedentes

El cultivo de fréjol (*Phaseolus vulgaris*) asociado con maíz (*Zea mays*) es un sistema de cultivo que se ha implementado a lo largo de la Sierra de Ecuador, probablemente desde la introducción y domesticación de estos cultivos. Este sistema tradicional de cultivo es el resultado de la co-adaptación de las poblaciones del maíz y fréjol, creando un sistema sinérgico y sostenible. El cultivo de maíz/fréjol en asociación ha sido clave en la provisión de carbohidratos y proteínas para la población que se asienta en los Andes de Ecuador (Yáñez, 2007; Peralta et al., 1997).

El fréjol tipo *Canario* es al momento la principal población de fréjol que se cultiva en esta asociación. Sin embargo, en Cotacachi y Saraguro, el cultivo de variedades mezcla es la principal práctica en la asociación; práctica que en el pasado había sido común en toda la Sierra, ya que eventualmente esta práctica se observa en ciertas zonas de la provincia de Bolívar, Chimborazo y Azuay. Una variedad mezcla de fréjol es una población compuesta por una diversidad de genotipos, cuya composición es variable entre fincas y dinámica en el tiempo, y estable a la presión de estreses bióticos y abióticos.

La asociación genéticamente diversa de la asociación maíz/fréjol que se cultiva en Cotacachi y Saraguro se trata de una práctica de intensificación, cuya racionalidad y principios no han sido establecidos, aspectos que necesitan ser estudiados para producir evidencias de la sostenibilidad, y así diseñar programas de conservación de la diversidad genética del fréjol, y ajustar esta práctica a procesos modernos y más productivos de intensificación de este y otros cultivos. En el presente estudio se evaluará la funcionalidad de la resistencia de los genotipos componentes de las variedades mezcla a enfermedades.

Objetivo

Evaluar la reacción a roya (*Uromyces appendiculatus*), oídio (*Erysiphe polygoni*) y al Virus del Mosaico Común del Fréjol (BCMV), y el potencial productivo de los genotipos de fréjol componentes de las variedades mezcla de Cotacachi y Saraguro, en Bulcay-Gualaceo-Azuay.

Metodología

En este estudio se evaluó la reacción a *U. appendiculatus*, *E. polygoni*, BCMV, y el potencial productivo de los genotipos de fréjol componentes de las variedades mezcla de Cotacachi y Saraguro, en la Estación Experimental del Austro (EEA) a 2200 msnm, en Bulcay-Gualaceo-Azuay. Se evaluaron 49 genotipos de fréjol de Cotacachi y 76 genotipos de fréjol de Saraguro en asocio con la variedad de maíz Zhima. Los genotipos se sembraron en un surco (parcela) de 4 m de largo separados por 1 m. Se sembraron tres semillas de fréjol y dos semillas de maíz en cinco sitios en el surco. La evaluación de la severidad a oídio, roya, BCMV se realizó cada mes durante tres ocasiones cuando se uniformizó la epidemia a inicio del estado fenológico de vaina. La evaluación se realizó utilizando la escala modificada de Cobb (0-100), adaptado a fréjol por Stavely, 1983. Para el análisis de la información se seleccionó la evaluación más confiable. El rendimiento se calculó cosechando todas las plantas de la parcela (g/parcela) y se transformó a rendimiento por hectárea (kg/ha).

Resultados y discusión

Los resultados de este estudio se analizaron con dos enfoques: a) la integralidad de las epidemias de las enfermedades, y b) el análisis de la resistencia de los genotipos estudiados. La epidemia integral de las enfermedades resultó de la interacción independiente de los genotipos con los patógenos. Para cada enfermedad se presentó una gran variación de reacciones desde la ausencia a niveles significativos de la enfermedad (Tabla1). Genotipos con niveles bajos de severidad (resistencia) de roya, oídio y BCMV se presentaron tanto en la colección de Cotacachi como Saraguro. Igualmente, genotipos con niveles altos de severidad de roya, oídio y BCMV se presentaron tanto en la colección de genotipos de Cotacachi como de Saraguro. Estos resultados muestran que las epidemias de las enfermedades en el sitio experimental fueron similares para las dos colecciones, y permitió la expresión de las reacciones de resistencia y susceptibilidad de los genotipos estudiados. Como se aprecia en este estudio, se presentó una gran variación de reacciones para todas las enfermedades, tanto para los genotipos de Cotacachi como para los genotipos de Saraguro; sin embargo, el promedio de severidad igualmente para todas las enfermedades fueron bajos para las dos poblaciones de fréjol. Como los genotipos estudiados se cultivan en mezclas diversas, se espera que en esta interacción la contribución de la resistencia contribuya de mejor manera a reducir las epidemias a niveles inferiores a los promedios obtenidos para las dos colecciones, y que no causen daños severos al cultivo. La composición de la mezcla es además dinámica, lo que resulta de la interacción de la mezcla con los estreses bióticos y abióticos que se presentan en cada ciclo de cultivo.

Tabla 1. Severidad mínima (Min.), máxima (Max.) y promedio (Prom.) utilizando la escala de Cobb (0-100) de roya, oídio y BCMV, de genotipos componentes de variedades mezcla de Cotacachi y Saraguro.

Origen	Roya			Oídio			BCMV		
	Min.	Max.	Prom.	Min.	Max.	Prom.	Min.	Max.	Prom.
Cotacachi	0	40	7.1	0	10	0.5	0	50	7.6
Saraguro	0	50	9.7	0	10	0.4	0	60	6.4

En este estudio se presentó también una gran variación en la fenología de los genotipos estudiados, para días a la floración y días a la cosecha, tanto para los genotipos de Cotacachi como Saraguro (Tabla 2). La variación y promedios para días a la floración fueron similares tanto para los genotipos de Cotacachi como Saraguro; sin embargo, los genotipos de Cotacachi fueron más precoces cuando se toma en cuenta los días a la cosecha.

El rendimiento tanto de los genotipos de Cotacachi como los genotipos de Saraguro variaron desde valores muy bajos, 72.5 kg/ha para los genotipos de Cotacachi y 15 kg/ha para los genotipos de Saraguro; hasta valores altos, 1305 kg/ha para los genotipos de Cotacachi y 1185 kg/ha para los genotipos de Saraguro. La media del rendimiento fue en promedio superior para los genotipos de Saraguro (547.5 kg/ha) que para los genotipos de Cotacachi (437.5 kg/ha). Esta gran variación en productividad debe estar asociado con la adaptabilidad de los genotipos a las condiciones ambientales de Bulcay, y a los estreses bióticos y abióticos presentes en esta localidad, aspecto que debe ser estudiado en otras localidades, para entender mejor el comportamiento y funcionalidad de la diversidad genética del fréjol voluble.

Aunque hubo una gran variación tanto en la reacción a enfermedades como en el rendimiento, no se presentó correlación entre la severidad de las enfermedades con el rendimiento, tanto para la colección de los genotipos de Cotacachi, como para la colección de genotipos de Saraguro, lo que sugiere que el rendimiento en este estudio no estuvo solamente influenciado por las enfermedades, sino también por factores de naturaleza abiótica, aspecto que es necesario dilucidarlo.

Tabla 2. Valores mínimos (Min.), máximos (Max.) y promedio (Prom.) de las variables días a la floración, días a la cosecha y rendimiento de los genotipos componentes de las variedades mezcla de Cotacachi y Saraguro.

Origen	Días a la Floración			Días a la Cosecha			Rendimiento (kg/ha)		
	Min.	Max.	Prom.	Min.	Max.	Prom.	Min.	Max.	Prom.
Cotacachi	70	97	89.7	125	177	172.5	72.5	1305	437.5
Saraguro	80	98	89.2	163	200	178.8	15	1185	557

Conclusiones

- En este estudio se identificó fuentes de resistencia para *U. appendiculatus*, *E. polygoni* y BCMV, tanto en los genotipos de Cotacachi como en los genotipos de Saraguro.
- Se presentó una gran variación de reacciones para todas las enfermedades, tanto para los genotipos de Cotacachi como para los genotipos de Saraguro; sin embargo, los promedios de severidad para las dos colecciones fueron bajos, lo que muestra la contribución de las mezclas de genotipos para la reducción de enfermedades del fréjol.
- Igualmente, se presentó una gran variación en el rendimiento tanto para los genotipos de Cotacachi como para los genotipos de Saraguro, el promedio de rendimiento fue bueno tanto para los genotipos de Cotacachi como para los genotipos de Saraguro, y muchos genotipos presentaron muy buenos potenciales de rendimiento.

Actividad 5.

Evaluación de la resistencia a enfermedades, potencial agronómico y la calidad de la fruta de

líneas mejoradas de naranjilla en Ecuador

Responsable: Ing. José Ochoa. Ph.D

Colaboradores: Ing. William Viera, Ing. Pablo Llumiquinga, Ing. Pablo Viteri, Ing. Judith Zapata, Paul

Mejía y Jorge Merino

Aprobación protocolo: “Evaluación de la resistencia a enfermedades, potencial agronómico y la calidad de la fruta de líneas mejoradas de naranjilla en Ecuador”, fue aprobado por los miembros del comité técnico mediante un acta y Memorando Nro.INIAP-EESC_DIR-2020-0891-MEM con fecha 6 de agosto de 2020

Antecedentes

La naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) es una fruta nativa que tiene potencial como fruta exótica a nivel global (National Reseach Council, 1989), tiene una demandada internacional creciente (Freshplaza, 2018), por lo que además de la comercialización local, puede exportarse, por lo que el cultivo de naranjilla es una oportunidad importante para los agricultores donde se produce naranjilla.

Los cultivares locales bola, agria, dulce, Baeza y Baeza roja, domesticados en la Amazonia alta, fueron cultivados exitosamente hasta inicios de la década de 1980, desde ese entonces la fruta de estos cultivares se ha vuelto escaza (Heiser, 1985). Al momento, los cultivados locales han sido reemplazados por el híbrido Puyo, desarrollado por el agricultor Raúl Viteri. Este híbrido fue derivado del cruzamiento entre naranjilla (*S. quitoense*) con una cocona silvestre (*Solanum sessiliflorum*) (Heiser y Anderson, 1999). Aunque el cultivo del híbrido Puyo ha restaurado la oferta de naranjilla en el país, este híbrido produce tamaños de fruta menores a la mitad de los cultivares locales, por lo que para incrementar el tamaño de la fruta, el agricultor aplica el herbicida hormonal Dacocida cuyo ingrediente activo es 2-4-D Ester (Heiser, 1993). Las concentraciones de 2-4-D Ester en la fruta son generalmente altas, por lo que es una limitante importante, especialmente para la exportación(Cueva, 2013; Lucio y Espin, 1997).

Para superar las limitantes del híbrido Puyo, en el año 2000, el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), libera el híbrido INIAP-Palora (Fiallos, 2000) que resultó del cruzamiento entre una cocona cultivada (*S. sessiliflorum*) con la variedad de naranjilla Baeza roja (Heiser, 1993). Sin embargo, a pesar de producir naturalmente fruta de tamaño comercial, no ha tenido aceptación

en el mercado, al parecer por tener pulpa de color amarillo claro. Con el mismo objetivo, luego se liberó la variedad INIAP-Quitoense 2009 que se obtuvo de una selección del cultivar local Baeza (Viteri et al., 2009). Esta variedad tiene la pulpa de color verde y la calidad de fruta de los cultivares locales inicialmente domesticados, pero su cultivo no se ha expandido como se esperaba, probablemente porque necesita injertarse en un patrón resistente a enfermedades del suelo (Viteri et al., 2009).

El colapso de los cultivares locales: bola, agria, dulce, Baeza y Baeza roja, que ocurrió durante la década de 1970, se atribuye mayormente a epidemias de enfermedades, de la raíz (Heiser & Anderson, 1999; Heiser, 1985, 1993), especialmente de la marchitez vascular de la naranjilla (MVN), causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *quitoense* (Ochoa, et al., 2010). La resistencia parcial del híbrido Puyo a *F. oxysporum* f. sp. *quitoense*, con incidencias que no superan el 30%, explican el relativo éxito del cultivo de este híbrido en el país (Ochoa et al., 2010). Aun así, para evitar el inóculo del patógeno, tanto el híbrido Puyo como la naranjilla común se cultivan en el bosque primario, lo que en gran medida explica la deforestación de las estribaciones de la amazonia y la costa del Ecuador. Complementariamente, el tizón tardío causado por *Phytophthora infestans* es una limitante importante para la que se utiliza fungicidas, lo que incrementa los costos de producción y tiene efectos negativos asociados para el ambiente y salud del agricultor, y eventualmente para el consumidor por los residuos en la fruta.

Para contribuir con el cultivo sustentable de la naranjilla en el país, el desarrollo de variedades de naranjilla con resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *quitoense* y *P. infestans* con buenas características agronómicas son aspectos tecnológicos importantes. En este estudio se evaluó la resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *quitoense* y *P. infestans* en poblaciones segregantes de naranjilla derivada de cruces entre *S. quitoense* con *Solanum felinum*, *S. hyporodium* y *S. hirtum*.

Subactividad 5.1. Poblaciones F3 de la retrocruza entre *Solanum felinum* x *Solanum quitoense*

desarrolladas y evaluadas a *F. oxysporum* f. sp. *quitoense*

Objetivo

Desarrollar poblaciones F2 de la retrocruza entre *Solanum felinum* x *Solanum quitoense* y seleccionar fuentes de resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *quitoense*.

Metodología

En el ciclo de cultivo 2019 se desarrolló una población de seis plantas F1 de la cruce entre *S. felinum* x *S. quitoense*. De esta población F1, en el ciclo 2020 se seleccionó una planta y se realizó la retrocruza con *S. quitoense* como padre recurrente. En este ciclo se derivaron 167 plantas F2, las que fueron inoculadas con el aislamiento INIAP-SC-Fo 008 de *F. oxysporum* f. sp. *quitoense* proveniente de Tandapi-Pichincha. La inoculación se realizó en condiciones controladas en invernadero en plantas de 3 meses de edad y se utilizó una concentración de inóculo de 10^6 conidios/ml de agua. La evaluación se realizó utilizando la escala de la colonización vascular de la Tabla 1.

Tabla 1. Escala para evaluar la colonización de *F. oxysporum* f sp. *quitoense* en el sistema vascular de plantas de naranjilla.

NIVEL	SINTOMATOLOGÍA
N0	Sin evidencias de daño
N1	Lesiones corticales de la raíz
N2	Decoloración leve del sistema vascular limitada a la raíz
N3	Decoloración leve del sistema vascular en gran parte de la planta
N4	Decoloración moderada o severa del sistema vascular de toda la planta

Resultados y discusión

En este estudio, solo 30 de las 167 plantas evaluadas fueron resistentes al aislamiento INIAP-SC-Fo 008 de *F. oxysporum* f. sp. *quitoense*. Las 140 plantas restantes fueron susceptibles al aislamiento de *F. oxysporum* f. sp. *quitoense* y presentaron niveles de colonización que variaron entre N3 y N4 en la escala de la Tabla 1. De las plantas resistentes, 19 se sembraron en campo en la Granja Experimental Tumbaco para evaluar la reacción al complejo *Bactericera cockerelli/Candidatus Liberibacter solanacearum* y el potencial de rendimiento, y 11 plantas se sembraron en invernadero para evaluar tamaño y calidad de fruto. Al momento estos experimentos están en el estado fenológico de inicio de fructificación y se evaluarán las variables asociadas con la reacción a *Bactericera cockerelli/Candidatus Liberibacter solanacearum*, y potencial agronómico.

Conclusiones

- En este estudio se produjeron poblaciones F2 de la retrocruza *S.felinum/S. quitoense/S. quitoense*.
- En esta retrocruza se pudo seleccionar una población de 30 plantas resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *quitoense*.

Subactividad 5.2. Resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *quitoense* de poblaciones F2 y retrocruzas derivadas con especies de la sección *Lasiocarpa*

Objetivo

Evaluar la reacción a *Fusarium oxysporum* f sp *quitoense* de poblaciones F2 y retrocruzas derivadas de los cruzamientos entre *Solanum quitoense* con *Solanum hypodidum* y *Solanum hirtum*.

Metodología

En este estudio se evaluó la reacción al aislamiento INIAP-SC-Fo 008 de *F. oxysporum* f. sp. *quitoense* de poblaciones F2 y retrocruzas derivadas de los cruzamientos entre *Solanum quitoense* con *Solanum hypodidum* y *Solanum hirtum*. Al igual que en el resultado 1, en el ciclo de cultivo 2019 se

desarrolló poblaciones F1 de la cruce entre *S. hyporodium* x *S. quitoense* y *S. hirtum* x *S. quitoense*.

Una planta F1 de la cruce entre *S. hyporodium* x *S. quitoense* se autofecundó y se desarrolló una

población F2, mientras que con una planta F1 de la cruce entre *S. hirtum* x *S. quitoense* se desarrolló

una retrocruza con *S. quitoense* como padre recurrente. Se derivaron 26 plantas F2 de la cruce

simple entre *Solanum hirtum*/*S. quitoense*, y 66 plantas de la retrocruza *Solanum hyporodium*/*S.*

quitoense//*S. quitoense*. Plantas de tres meses de edad se inocularon con el aislamiento INIAP-SC-Fo

008 de *F. oxysporum* f. sp. *quitoense*. Para la inoculación se utilizó una concentración de 10^6

conidios/ml de agua. Cuando se presentaron los síntomas de marchitez vascular se evaluó la

colonización vascular de la planta utilizando la escala de la Tabla 1.

Resultados y discusión

En este estudio, la mayoría de plantas tanto de las poblaciones F2 de la cruce *Solanum hirtum*/*S.*

quitoense como de la retrocruza *S.hyporodium*/*S.quitoense*//*S.quitoense* fueron susceptibles al

patógeno presentando una marchitez severa y colonización vascular N3 y N4 (Tabla 1). En la

retrocruza *S.hyporodium*/*S.quitoense*//*S.quitoense* tres de las 66 plantas fueron resistentes al

patógeno, y en la cruce simple *S.hirtum*/*S.quitoense* tres de las 26 plantas F2 fueron resistentes al

patógeno. En este estudio, en las plantas resistentes al patógeno no se evaluó la colonización al

patógeno, y se trasplantó a campo en la Granja Experimental Tumbaco para evaluar la fenología y

características agronómicas. Este estudio se está realizando como tesis de grado.

Conclusiones

- En este estudio se produjeron poblaciones F2 de la cruce *Solanum hirtum*/*S. quitoense* y de la retrocruza *S.hyporodium*/*S.quitoense*//*S.quitoense*.
- En estas poblaciones se seleccionaron plantas resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *quitoense* tanto en la cruce *Solanum hirtum*/*S. quitoense* como en la retrocruza *S.hyporodium*/*S.quitoense*//*S.quitoense*.

Subactividad 5.3. Poblaciones promisorias de naranjilla evaluadas para las principales

enfermedades y potencial de rendimiento.

Objetivos

Evaluar la reacción a enfermedades foliares de poblaciones promisorias de naranjilla y potencial de rendimiento.

Metodología

En este estudio las poblaciones promisorias de naranjilla de la Tabla 1 se evaluaron a enfermedades foliares en Bulcay-Gualaceo-Azuay, en Tumbaco-Quito-Pichincha y en Tandapi-Machachi-Pichincha.

En este estudio se evaluaron al menos diez plantas de cada población en cada sitio experimental a

Bactericera cockerelli, *Candidatus Liberibacter solanacearum*, y tizón tardío (*P. infestans*).

Tabla 1. Poblaciones de naranjilla derivadas de cruzas inter-específicas con especies de la Sección *Lasiocarpa*.

Población	Cruza	Historial de selección
Na 1	<i>S. hyporhodium/S. quitoense</i>	<i>Shyp/Squi</i> (2)(67)(2)(3)
Na 2	<i>S. hyporhodium/S. quitoense</i>	<i>Shyp/Squi</i> (2)(67)(1)(5)
Na 3	<i>S. quitoense/S. vestissimun//S. quitoense</i>	<i>Squi/Sves//Squi</i> (1)(9)(1)(1)
Na 4	<i>S. quitoense/S. vestissimun//S. quitoense</i>	<i>Squi/Sves//Squi</i> (1)(5)(1)(1)
Na 5	<i>S. hirtum/S. quitoense//S. quitoense</i>	<i>Shir/Squi//Squi</i> (38)(1)(1)
Na 6	<i>S. hirtum/S. quitoense//S. quitoense</i>	<i>Shir/Squi//Squi</i> (5)(1)
Na 7	<i>S. quitoense/S. sessiliflorum</i>	Híbrido Puyo

Resultados y discusión

En Bulcay, las poblaciones están en estado fenológico de primera fructificación y se presentó una marchitez súbita, que causó la muerte de las plantas y la pérdida del ensayo. En el diagnóstico se detectó a *Sclerotinia esclerotiorum* como la causa de esta marchitez.

En Tumbaco, las poblaciones están en el estado fenológico de inicio de fructificación y fueron afectadas por enfermedades nuevas, que presentan dos síntomas claramente diferenciables, la clorosis de los brotes jóvenes y la brotación activa de las yemas apicales (escoba de brujas), síntomas que se han visto asociados con el daño de *B. cockerelli* y CLso, respectivamente. En este estudio las poblaciones Na1, Na2, Na3 y Na4 no presentaron síntomas claros de estas enfermedades, mientras que las poblaciones Na5, Na6 y Na7 presentaron los síntomas tanto de clorosis como escoba de brujas. Estas enfermedades se presentaron en forma más tardía que lo que se ha observado en tomate de árbol, por lo que probablemente la naranjilla es menos susceptible a *B. cockerelli* y CLso. La ausencia de síntomas en las poblaciones Na 1, Na 2, Na 3 y Na 4 posiblemente se debe a antixenosis a *B. cockerelli*, y resistencia y/o tolerancia a CLso. Los aspectos asociados a las diferencias de reacción de estas poblaciones a este nuevo complejo insecto/patógeno debe estudiarse con más detalle.

En Tandapi, se presentó el tizón tardío, y la epidemia se inició pronto, a los tres meses después del trasplante, a inicios de la primera floración, lo que afectó significativamente a la mayoría de las poblaciones evaluadas, que presentaron valores de severidad superiores a siete lesiones/planta, que causa daños muy severos; sin embargo, las líneas Na 3 y Na 4 presentaron niveles de severidad inferiores a 4 lesiones/planta, por lo que presentan resistencia cuantitativa a tizón tardío. Luego de esta epidemia se realizó el control de la enfermedad utilizando fungicidas para recuperar las plantas, y medir las características agronómicas de estas variedades.

Conclusiones

- En este estudio se identificó poblaciones de naranjilla que no presentaron síntomas de clorosis y escoba de brujas, lo que podría estar asociado con antixenosis para *B. cockerelli* y/o resistencia a *B. cockerelli* y CLso.
- En estas poblaciones de naranjilla también se identificó resistencia de naturaleza cuantitativa para *P. infestans*.

Referencias

Buchman, J.L, Sengoda, V.G., y Munyaneza, J.E (2011). Vector Transmission Efficiency of Liberibacter by *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) in Zebra Chip Potato Disease: Effects of Psyllid Life Stage and Inoculation Access Period. *Journal of Economic Entomology* 104(5), 1486-1495. <https://doi.org/10.1603/EC11123>

Fiallos, J. (2000). INIAP-Palora: Híbrido Específico de Alto Rendimiento. INIAP, Quito, Ecuador: INIAP.

Freshplaza. (2018). The exotic fruit market grows exponentially. Retrieved March 27, 2020, from: <https://www.freshplaza.com/article/2191140/the-exotic-fruit-market-grows-exponentially/>

Heiser, C., Anderson, G. (1999). "New" solanums. *Perspectives on New Crops and New Uses*, 379–384.

Heiser, C. B. (1985). Ethnobotany of the Naranjilla (*Solanum-Quitoense*) and Its Relatives. *Economic Botany*, 39(June 1984), 4–11. <https://doi.org/10.1007/bf02861168>

Heiser, C. B. (1993). The naranjilla (*Solanum quitoense*), the cocona (*Solanum sessiliflorum*) and their hybrid. *Gene Conservation and Exploitation*, 29–34. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1136-0_3

Lucio, D., y Espin, S. (1997). Niveles residuales de Plaguicidas en frutas Andinas. Tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) y Naranjilla (*Solanum quitoense*). Quito-Ecuador: DNC- EESC-INIAP.

National Reseach Council. (1989). *Lost Crops of the Incas. Little Known Plants of the Andes with Promise for Worldwide Cultivation* (First, Vol. 1). Washington, DC: National Academy Press.

Ochoa, J. B., Ellis, M., y Alwang, J. (2010). El manejo de la "Fusariosis" como base para un cultivo ecológico de la naranjilla en Ecuador. Quito, Ecuador.

Ochoa, J.B., Gallegos, P., Arroyo, M., Clavijo, F, Pazmiño, J., Williams R. and Ellis, M.A. 2007. Adding to *Fusarium* management, late blight and root knot nematode control. In: Integrated Pest Management Collaborative Research Program (IPM-CRSP). Annual Report. Virginia Tech. USA.

Pazmiño, J. 2008. Comportamiento de la sección *Lasiocarpa* del género *Solanum* a la patogenicidad de *Phytophthora infestans* en Ecuador. . Tesis Ing. Agr; Quito: Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas. p.14, 19,30-34

Pujota, M. (2005). Evaluacion de la resistencia a *Meloidogyne incognita* y a *Fusarium oxysporum* de una coleccion de solanaceas para mejoramiento de la naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.). Tumbaco-Pichincha. Universidad Central del Ecuador.

Rapisarda, P., Fanella, F., y Maccarone, E. (2000). Reliability of analytical methods for determining anthocyanins in blood orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2249-2252.

Ravichandra, N. G. (2010). *Methods and Techniques in Plant Nematology* (Primera ed). Nueva Delhi, India: Asoke K. Ghosh.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. y Rice-Evans. (1998). Antioxidant Activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Elsevier*, 26, 1231 -1237.

Taylor, A., y Sasser, J. (1978). *Biology, Identification and Control of Root-knot Nematodes (Meloidogyne species)* Raleigh. *NC: United States Agency for International ...*, 111.

Viteri, P., Vasquez, W., Leon, J., Viera, W., Posso, M., Hinojosa, M., Ochoa, J. (2009). INIAP QUITOENSE - 2009: Naranjilla de jugo (*Solanum quitoense* Latti.) injerta en patrones de solanáceas silvestres resistentes a *Fusarium oxysporum* y a *Meloidogyne incognita*. Quito, Ecuador: INIAP.

Yen, G.-C., y Chen, H.-Y. (1995). Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Agricultural and Food Chemistry*, 43(1), 27 - 32. doi: 10.1021/jf00049a007

Zhishen, J., Mengcheng, T., y Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4).

doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

Actividad 6.

Evaluación de la resistencia a enfermedades y caracterización agronómica de poblaciones de tomate de árbol en Ecuador

Responsable: Ing. José Ochoa. Ph.D

Colaboradores: Ing. Carlos Feican (EEA), Aníbal Martínez, Ing. William Viera, Ing. Pablo Viteri, Ing.

Judith Zapata

Aprobación protocolo: El protocolo “Evaluación de la resistencia a enfermedades y caracterización agronómica de poblaciones de tomate de árbol en Ecuador”, fue aprobado por los miembros del comité técnico mediante un acta y Memorando Nro.INIAP-EESC_DIR-2019-1089-MEM

Subactividad 6.1. Líneas promisorias de tomate de árbol evaluadas para las principales enfermedades y potencial de rendimiento

Objetivo

Evaluar la resistencia a las principales enfermedades de líneas promisorias de tomate de árbol y potencial de rendimiento

Metodología

Las líneas F3 y F4 de tomate de árbol que se estudiaron (Tabla 1), se derivaron del cruzamiento inter-específico entre *Solanum betaceum* x *Solanum unilobum*. Estas poblaciones presentaron resistencia al complejo virótico del tomate de árbol en Chillanes-Bolivar, Tandapi-Pichincha y Gualaceo-Azuay. Para confirmar la resistencia al complejo virótico, estas poblaciones se evaluaron en Tumbaco-Quito y Tandapi-Mejía en la provincia de Pichincha. Para evitar la infección de *Candidatus Liberibacter*

solanacearum (CLSo), las plántulas de estas poblaciones fueron producidas en el vivero de la Estación Experimental del Austro (EEA) del INIAP, en Bulcay.

En Tumbaco, el experimento fue afectado por una clorosis severa, daño que se presentó asociado con una infestación severa de *Bactericera cockerelli*, el psillido de la papa/tomate riñón; y complementariamente, el experimento fue afectado por una brotación acelerada de las yemas que produjeron brotes delgados con la apariencia de escoba de brujas, síntoma que parece asociado a la bacteria endófito *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CLSo), que es transmitida por *B. cockerelli*. En este experimento se evaluó la reacción de las poblaciones F3 y F4 a estas enfermedades.

Tabla 1. Poblaciones F3 y F4 de tomate de árbol derivadas de cruza entre *S. betaceum* x *S. unilobum* seleccionadas con resistencia al complejo virótico del tomate de árbol.

Población	Cruzamiento	Historial de Selección
Ta 1	<i>S.betaceum/S. unilobum//S. betaceum</i> var. RG	Sb/Su(1)//Sb-(1)(1)
Ta 2	<i>S.betaceum/S. unilobum//S. betaceum</i> var. RG <i>S.betaceum/S. unilobum//S. betaceum/S.</i>	Sb/Su(1)//Sb-(1)(2)
Ta 3	unilobum	Sb/Su(24)//Sb/Su(1)-(1)(1)
Ta 4	<i>S.betaceum/S. unilobum</i>	Sb/Su-(19)(3)(1)

En este estudio se evaluaron al menos diez plantas de cada población por sitio experimental y en Tumbaco se incluyó cuatro plantas de cala línea injertada sobre el patrón tabaquillo (*Nicotiana glauca*). Las variables asociadas con el complejo virótico que se estudiaron fueron: 1) tiempo desde el trasplante al apareamiento de la enfermedad, 2) incidencia (porcentaje de plantas enfermas) y 3) severidad del complejo virótico. En la evaluación de la severidad del complejo virótico se usó la escala de la Tabla 2.

Tabla 2. Escala para la evaluación de la severidad complejo virótico del tomate de árbol

Niveles	Sintomatología*
0	Ausencia de síntomas
1	Mosaico, clorosis, mancha aceitosa, deformaciones y/o epinastia apenas distinguibles
2	Mosaico, clorosis, mancha aceitosa, deformaciones y/o epinastia claramente distinguibles
3	Mayormente mosaico, clorosis, deformaciones, epinastia, mancha aceitosa, que no involucra más del 25% del área foliar
4	Mosaicos, clorosis, deformaciones, epinastia, mancha aceitosa, que involucra entre el 25 - 50% del área foliar
5	Mosaicos, clorosis, deformaciones, epinastia, mancha aceitosa, que cubre entre el 50 - 75 % del área foliar
6	Mosaicos, clorosis, deformaciones, epinastia, mancha aceitosa, que no involucra más del 75% del área foliar

* A veces el orden de los síntomas del complejo virótico puede variar entre sitios/evaluaciones, por lo que el orden puede ajustarse a cada evaluación

Resultados

En Tumbaco, el experimento fue severamente afectado por la clorosis letal, daño asociado con la presencia de *Bactericera cockerelli*, el psillido de la papa/tomate riñón. La clorosis letal se presentó entre los dos y tres meses del trasplante, antes de la floración (etapa juvenil). El daño se caracterizó por una clorosis severa de las hojas jóvenes en crecimiento y cierta deformación de las hojas más pequeñas del ápice de la planta, aunque las hojas bajas que se habían formado antes de la presencia del insecto permanecieron verdes y aparentemente sanas. Un componente importante del síndrome es el atrofiamiento de la yema apical, por lo que la planta no alcanza la etapa de reproducción; sin embargo, la planta puede mantenerse en estado vegetativo por un período largo de tiempo.

A partir del cuarto mes del trasplante, en las plantas afectadas por la clorosis letal, se activaron las yemas a lo largo del tallo, especialmente las que se presentan cerca de la yema apical. Estos brotes producen ramas delgadas y débiles con hojas pequeñas, lo que forma un ramillete que se conoce como escoba de brujas. Este síntoma es complementario al causado por *B. cockerelli* y se asocia con

la bacteria endófito *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CLso), que se ha reportado ser transmitida por *B. cockerelli* en papa (*S. tuberosum*) y tomate riñón (*S. lycopersicum*).

Los síntomas de la clorosis letal y escoba de brujas se presentaron en todas las plantas de las cuatro poblaciones, a excepción de dos plantas de la población Ta 2 injertadas en tabaquillo. En estas plantas los síntomas fueron poco evidentes hasta el mes 10 después del trasplante, y las plantas llegaron a la etapa de reproducción. En este momento, en una de las tres ramas de la planta tomada al azar se detectó la presencia de cinco y tres ninfas de *B. cockerelli* en la planta Ta 2-1 y Ta 2-2, respectivamente. En la planta Ta 2-1, los síntomas tanto de clorosis letal como de escoba de brujas se presentaron a partir del mes 13 del trasplante, por lo que esta planta probablemente escapó a la infestación de *B. cockerelli*, o presenta ciertos niveles de resistencia/tolerancia a *B. cockerelli* y CLso. En la planta Ta 2-2, no se ha presentado síntomas evidentes de clorosis letal, probablemente por las poblaciones bajas de *B. cockerelli*, pero se han observado indicios de síntomas de escoba de brujas, como brotes un tanto cloróticos y menos vigorosos que los de una planta sana. En general la población Ta 2 probablemente presenta ciertos niveles de antixenosis, y niveles de resistencia a y/o tolerante a CLso. La hipotética asociación de la población Ta 2 de tomate de árbol con antixenosis a *B. cockerelli* y resistencia/tolerancia a CLso se debe a que en este estudio todas las plantas de las demás poblaciones presentaron síntomas severos tanto de clorosis letal como escoba de brujas. En Nuevo Machachi-Tandapi, el experimento fue afectado por un cáncer de la base del tallo lo que afectó el desarrollo de la planta; sin embargo, se pudo evaluar el desarrollo de la enfermedad en su primera etapa. En esta localidad, la epidemia del complejo virótico se inició a los tres meses del trasplante durante la época juvenil de la planta, y la enfermedad se presentó en forma severa a los cinco meses del trasplante, afectando significativamente a las cuatro poblaciones; sin embargo, la población Ta 4 presentó menos severidad de la enfermedad (Tabla 3). La presencia temprana del complejo virótico en esta localidad se debió a que este experimento se instaló junto a un cultivo significativamente afectado por el complejo virótico. El daño causado por el cáncer del tallo se

incrementó después de la segunda evaluación, lo que afectó significativamente el desarrollo de la planta, por lo que no se pudo continuar con la evaluación.

Conclusiones

- En Tumbaco-Pichincha, la afectación de clorosis letal y escoba de brujas fue muy severa, lo que no permitió encontrar diferencias claras de resistencia/tolerancia claras a estas enfermedades en las poblaciones de tomate de árbol evaluadas.
- En Tandapi-Pichincha, se presentó diferencias de severidad al complejo virótico, por lo que las poblaciones de tomate de árbol evaluadas presentaron diferencias de resistencia.

*Subactividad 6.2. Líneas de tomate de árbol evaluadas para el complejo *Bactericera**

cockerelli/Candidatus liberibacter solanacearum

Objetivo

Evaluar líneas de tomate de árbol para el complejo *Bactericera cockerelli/Candidatus liberibacter solanacearum*

Metodología

Experimento 1. Tumbaco-Pichincha

En la Granja Experimental Tumbaco (GET) en Tumbaco se evaluaron poblaciones de tomate de árbol F3 y F4 derivadas del cruzamiento inter-específico entre *Solanum betaceum* x *Solanum unilobum* (Tabla 1). Estas poblaciones inicialmente se seleccionaron por su resistencia al complejo virótico del tomate de árbol en Chillanes-Bolívar, Tandapi-Pichincha y Gualaceo-Azuay. En Tumbaco, el experimento fue severamente afectado por la clorosis letal, daño que se presentó asociado a una infestación severa de *Bactericera cockerelli*, el psillido de la papa/tomate riñón. La clorosis letal se presentó entre los dos y tres meses del trasplante antes de la floración en la etapa juvenil de la planta. El daño se caracterizó por una clorosis severa con cierta deformación y apariencia cauchosa de las hojas jóvenes en crecimiento del brote apical, aunque las hojas bajas que se forman antes

de la presencia del insecto se afectan y aparecen aparentemente sanas. Un componente importante del síndrome de esta enfermedad es el atrofiamiento de la yema apical, por lo que la planta no alcanza la etapa de reproducción y la planta puede mantenerse en estado vegetativo por un período largo de tiempo.

A partir del cuarto mes del trasplante, en las plantas afectadas por la clorosis letal, se activaron las yemas latentes a lo largo del tallo, especialmente las que se presentan cerca de la yema apical. Estos brotes producen ramas delgadas y débiles con hojas pequeñas, lo que forma un ramillete que se conoce como escoba de brujas. Este síntoma se desarrolla alrededor de un mes y medio después de la presencia de la clorosis letal. En plantas con síntomas de escoba de brujas se ha detectado consistentemente la bacteria endófito *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CLso), que es transmitida por *B. cockerelli* en papa (*S. tuberosum*) y tomate riñón (*S. lycopersicum*). Esta bacteria se ha detectado en el país en papa causando la papa manchada o "zibra chip".

Tabla 1. Poblaciones F3 y F4 de tomate de árbol derivadas de cruza entre *S. betaceum* x *S. unilobum* seleccionadas con resistencia al complejo virótico del tomate de árbol.

Población	Cruzamiento	Historial de Selección
Ta 1	<i>S. betaceum</i> / <i>S. unilobum</i> // <i>S. betaceum</i> var. RG	Sb/Su(1)//Sb-(1)(1)
Ta 2	<i>S. betaceum</i> / <i>S. unilobum</i> // <i>S. betaceum</i> var. RG	Sb/Su(1)//Sb-(1)(2)
Ta 3	<i>S. betaceum</i> / <i>S. unilobum</i> // <i>S. betaceum</i> / <i>S. unilobum</i>	Sb/Su(24)//Sb/Su(1)-(1)(1)
Ta 4	<i>S. betaceum</i> / <i>S. unilobum</i>	Sb/Su-(19)(3)(1)

Experimento 2. Píllaro-Tungurahua

Las poblaciones de tomate de árbol de este estudio también se derivaron de la cruce inter específica entre *Solanum betaceum* con *Solanum unilobum* (Tabla 2), y se evaluaron en la Granja Experimental Pillaro (GEP). Estas poblaciones también se seleccionaron por su resistencia al complejo virótico del tomate de árbol en Chillanes-Bolivar, Tandapi-Pichincha y Gualaceo-Azuay.

Tabla 2. Poblaciones de tomate de árbol derivadas de cruzamientos entre *Solanum betaceum* con *S. unilobum* evaluadas en Pillaro

Población	Cruza	Historial de selección
Ta 1	<i>S.betaceum/S. unilobum//S. betaceum var. AP/S. unilobum</i>	Sb/Su(22)(1)//Sb/Su(24)(1)-(1)
Ta 2	<i>S. betaceum</i>	Común
Ta 3	<i>S.betaceum/S. unilobum//S. betaceum var. AP</i>	Sb/Su(22)//Sb-(1)
Ta 4	<i>S. betaceum var. AP//S.betaceum/S. unilobum</i>	Sb//Sb/Su(24)(1)-(1)
Ta 5	<i>S.betaceum/S. unilobum(24)(1)</i>	Sb/Su(24)(1)//Sb-(1)
Ta 6	<i>S.betaceum</i>	Común-Amarillo Puntón
Ta 7	<i>S.betaceum/S. unilobum//S. betaceum var. AP</i>	Sb/Su(24)(1)//Sb-(1)
Ta 8	<i>S.betaceum/S. unilobum//S. betaceum var. AP/S. unilobum</i>	Sb/Su(24)(1)//Sb/Su(1)-(1)
Ta 9	<i>S.betaceum/S. unilobum//S. betaceum var. RG</i>	Sb/Su(1)//Sb-(1)(1)
Ta 10	<i>S.betaceum/S. unilobum//S. betaceum/S. unilobum</i>	Sb/Su(24)//Sb/Su(1)-(1)(1)
Ta 11	<i>S.betaceum/S. unilobum</i>	Sb/Su-(19)(3)(1)
Ta 12	<i>S.betaceum/S. unilobum</i>	Sb/Su(24)-(1)(2)

En Pillaro se evaluó al menos cinco plantas de cada población de la Tabla 2. En esta localidad se presentó una población alta de *B. cockerelli*, por lo que también se presentó síntomas de clorosis letal y escoba de bujas, y a diferencia de Tumbaco, en esta localidad se pudo evaluar la población (ninfas) de *B. cockerelli*, y la incidencia y severidad de clorosis letal y escoba de brujas. La evaluación de la población de ninfas de *B. cockerelli* se realizó en tres hojas tomadas al azar en una de las tres ramificaciones de cada planta (Tabla 3).

Resultados y discusión

Experimento 1. Tumbaco-Pichincha

En Tumbaco, el experimento fue severamente afectado por la clorosis letal, daño que se presentó asociado a una infestación severa de *Bactericera cockerelli*, el psillido de la papa/tomate riñón. La clorosis letal se presentó entre los dos y tres meses del trasplante antes de la floración en la etapa juvenil de la planta. El daño se caracterizó por una clorosis severa con cierta deformación y apariencia cauchosa de las hojas jóvenes en crecimiento del brote apical, aunque las hojas bajas que se forman antes de la presencia del insecto se afectan y aparecen aparentemente sanas. Un componente importante del síndrome de esta enfermedad es el atrofiamiento de la yema apical, por lo que la planta no alcanza la etapa de reproducción y puede mantenerse en estado vegetativo por un período largo de tiempo.

A partir del cuarto mes del trasplante, en las plantas afectadas por la clorosis letal, se activaron las yemas latentes a lo largo del tallo, especialmente las que se presentan cerca de la yema apical. Estos brotes producen ramas delgadas y débiles con hojas pequeñas, lo que forma un ramillete que se conoce como escoba de brujas. Este síntoma se desarrolla alrededor de un mes y medio después de la presencia de la clorosis letal. En plantas con síntomas de escoba de brujas se ha detectado consistentemente la bacteria endófito *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CLso), que es transmitida por *B. cockerelli* en papa (*S. tuberosum*) y tomate riñón (*S. lycopersicum*). Esta bacteria se ha detectado en el país en papa causando la papa manchada o "zibra chip".

En Tumbaco, los síntomas de clorosis letal y escoba de brujas se presentaron en todas las plantas de las cuatro poblaciones evaluadas, a excepción de dos plantas de la población Ta2 injertadas en tabaquillo. En estas plantas los síntomas fueron poco evidentes hasta el mes 10 después del trasplante, y las plantas llegaron a la etapa de reproducción. En este momento, en una de las tres ramas principales de la planta, que se seleccionó al azar, se contabilizaron cinco y tres ninfas de *B. cockerelli* en la planta Ta 2-1 y Ta2-2, respectivamente. En la planta Ta 2-1, los síntomas tanto de clorosis letal como de escoba de brujas se presentó a partir del mes 13 del trasplante, por lo que

esta planta probablemente escapó a la infestación de *B. cockerelli* antes del mes 13, o presenta ciertos niveles de resistencia/tolerancia a *B. cockerelli* y CLso. En la planta Ta2-2, no se ha presentado síntomas evidentes de clorosis letal, probablemente por las poblaciones bajas de *B. cockerelli*, pero se han observado indicios de síntomas de escoba de brujas, como brotes un tanto cloróticos y menos vigorosos que los de una planta sana. En general, la población Ta2 probablemente presenta ciertos niveles de antixenosis, y niveles de resistencia a y/o tolerante a CLso. La hipotética asociación de la población Ta 2 con antixenosis a *B. cockerelli* y resistencia/tolerancia a CLso se debe a que en este estudio todas las plantas de las demás poblaciones presentaron síntomas severos tanto de clorosis letal como escoba de brujas.

Experimento 2. Píllaro-Tungurahua

En el estudio de Píllaro se presentó diferencias de la población de *B. cockerelli* entre las poblaciones de tomate de árbol evaluadas; así, las poblaciones del insecto son significativamente altas en la población Ta1 y bajas en Ta11 (Tabla 3). Así mismo, se presentó diferencias en la incidencia y severidad de clorosis letal y escoba de brujas entre las poblaciones de tomate de árbol evaluadas. La población Ta1 presentó en general menos incidencia y severidad de clorosis letal y escoba de brujas en las dos evaluaciones, mientras que la población Ta3 presentó mayores incidencias y severidad de las dos enfermedades. La población Ta11 presenta posiblemente antixenosis a *B. cockerelli*, mientras que la población Ta1 presenta resistencia/tolerancia a escoba de brujas, aspecto que se evaluara en estudios complementarios.

Tabla 3. Evaluación de la población de *B. cockerelli*, incidencia y severidad de clorosis letal, escoba de brujas, e incidencia de ojo de pollo en tomate de árbol en Píllaro-Tungurahua.

Población	Ninfas		Incidencia (% plantas)				Severidad (escala 0-5)				Incidencia (% plantas) ojo pollo
	<i>B. cockerelli</i>		Clorosis letal		Escoba brujas		Clorosis letal		Escoba brujas		
	Eva 1	Eva 2	Eva 1	Eva 2	Eva 1	Eva 2	Eva 1	Eva 2	Eva 1	Eva 2	
Ta 1	93	33	25	100	25	100	0.8	2.3	0.3	1.8	30
Ta 3	28	14	100	100	100	100	3.0	2.3	1.3	2.8	20
Ta 9	31	15	58	100	48	100	1.2	2.7	0.7	2.2	40
Ta 10	30	18	95	100	91	100	2.4	1.9	1.4	2.4	15
Ta 11	23	15	89	100	89	100	1.8	1.9	0.9	2.4	0

Eva 1: a los 245 días del trasplante

Eva 2: a los 360 días del trasplante

Conclusiones

- En este estudio se presentó diferencias de la población de ninfas de *B. cockerelli* entre las poblaciones de tomate de árbol evaluadas, por lo que es necesario establecer si estas diferencias se deben a antixenosis, resistencia o preferencia.
- Igualmente, se presentó diferencias de incidencia y severidad de clorosis letal y escoba de brujas entre las poblaciones de tomate de árbol evaluadas, por lo aparentemente existe diferencias de resistencia y/o tolerancia a *B. cockerelli* y CLSo.

Actividad 7.

Estrategias de prevención y manejo de las marchiteces vasculares causadas por *Fusarium oxysporum* en Ecuador.

Responsable: Ing. José Ochoa. PhD

Subactividad 7.1 Fungicidas evaluados para el control de cinco formae especiales de *Fusarium*

oxysporum

Objetivo

Evaluar la eficacia *invitro* de fungicidas para el control de cinco formae especiales de *Fusarium*

oxysporum

Metodología

En este estudio se evaluó la eficacia *in-vitro* de fungicidas sistémicos para el control de *F. oxysporum* f. sp. *vasconcellea* que infecta a babaco, *F. oxysporum* f. sp. *quitoense* que infecta a naranjilla, *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* que infecta a granadilla, *F. oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 que infecta a la variedad de banano Gros Michel. En este estudio se evaluó los fungicidas comerciales que la literatura los identifica como eficaces para *F. oxysporum*, y fungicidas modernos nuevos que podrían ser alternativas complementarias en el control de las marchiteces vasculares causadas por *F. oxysporum*. La eficacia de los fungicidas se evaluó a través de la medición del crecimiento radial del micelio expuesto a concentraciones de fungicidas de 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, y 10 $\mu\text{g/ml}$. Los fungicidas se disolvieron en el medio Papa Dextrosa Agar (PDA). Con los datos del crecimiento radial se calculó la Concentración Efectiva 50, por sus siglas en inglés EC50, que consiste en calcular mediante una regresión lineal la concentración del fungicida a la que se reduce el crecimiento micelial en un 50%, en relación al crecimiento del patógeno a la concentración del fungicida de 0 $\mu\text{g/ml}$.

Resultados y discusión

En la Tabla 1, se presenta los EC50's preliminares de los fungicidas estudiados, los que se confirmarán con un experimento complementario. En este estudio el fungicida más eficaz (menor valor de EC50) fue prochloraz con EC50, iguales o inferiores a 0.005 $\mu\text{g/ml}$, luego Los EC50's de propiconazol y pyraclostrobin también fueron bajos, menores a 0.15 $\mu\text{g/ml}$. Se observó ciertas interacciones entre *formae speciales* y fungicidas; especialmente para pyraclostrobin y azoxystrobina, que son más eficaces para las *formae speciales quitoense* y *passiflorae*, que para las *formae speciales cubense* y *vasconcellea*. En pruebas complementarias se confirmará la eficacia de fluxapiroxad + pyraclostrobin, tiabendazol y adepydin. Adicionalmente, la eficacia de estos fungicidas serán confirmados con pruebas *in vivo*, con infecciones controladas del patógeno.

Tabla 1. Resultados preliminares de la Concentración Efectiva 50 (EC50) de fungicidas sistémicos evaluados para el control de cuatro formas especiales de *F. oxysporum*.

Nombre comercial	Ingrediente Activo	Forma specialis			
		<i>quitoense</i>	<i> cubense</i>	<i>vasconcellea</i>	<i>passiflorae</i>
comet Top	pyraclostrobin	0.07	0.15	0.6	0.09
azoxystrobin	azoxystrobin	0.9	11	12	1.1
propiconazol	propiconazol	0.04	0.05	0.09	0.03
carbendazim	carbendazim	0.6	0.65	0.62	0.65
prochloraz	prochloraz	0.001	0.005	0.003	0.001
	fluxapiroxad +				
vivace	pyraclostrobin	0.001	0.01	-	-
cevyá	mefentrifluconazol	0.005	0.2	-	-
mertect	tiabendazol	5	-	-	-
miravis	adepydin	0.3	0.9	0.5	-

Conclusiones

- En este estudio se presentó diferencias de eficacia entre los fungicidas evaluados, y; los fungicidas más eficaces en estas pruebas preliminares fueron prochloraz, propiconazol y pyraclostrobin.

Actividad 8.

Determinación de la sensibilidad de poblaciones de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) a siete fungicidas.

Responsable: Cristina Tello

Colaboradores: Evelyn Pilicita, Clara Iza

Antecedentes

A nivel mundial, *Solanum tuberosum* L., se encuentra en cuarto lugar de importancia como alimento después del maíz, el trigo y el arroz. Los principales países productores de papas son China con 90 321 442 toneladas/año, India con 48 529 000 toneladas/año, Ucrania 22 503 970 toneladas/año, Fed. De Rusia con 22 394 960 toneladas/año y Estados Unidos con 20 607 342 toneladas/año (FAO, 2018).

En Ecuador la papa cuenta con una producción de 269 201 toneladas/año (FAO, 2018), con una superficie cosechada de 32.188 hectáreas/año, es uno de los cultivos con mayor consumo per cápita de 23 kg/año, debido a la presencia en la dieta diaria de los ecuatorianos (INEC et al., 2018). Las provincias con mayor producción en la región sierran son Carchi, Pichincha, Cotopaxi y Tungurahua por las condiciones climáticas y edáficas, estas favorecen la adaptabilidad del cultivo y las variedades más utilizadas por los agricultores son: Chola, Superchola, Gabriela y Chaucha (INIAP, 2019).

Uno de los problemas bióticos importantes de la papa es el tizón tardío, ocasionado por el oomicete *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, causante de pérdidas entre el 30% al 100% del rendimiento en pocos días (Oyarzún et al., 2001); siendo un patógeno que constantemente presenta inóculo, puede sobrevivir a temperaturas entre 15 a 22°C con una humedad relativa mayor al 80% (Escalante & Farrera, 2004).

Una práctica en el manejo integrado es el uso de variedades resistentes a tizón tardío (Oyarzún et al., 2001), sin embargo, las variedades cultivadas en su mayoría son susceptibles y la intervención en el país se basa en el control químico, usando mezclas las cuales sobre dosifican los agricultores al realizar más de 13 aplicaciones en cada ciclo del cultivo (Forbes et 2 al., 2014), esto ha generado resistencia genética a ingredientes activos de algunos fungicidas (Pérez & Forbes, 2008). Por el mal uso de los ingredientes activos, la efectividad de estos productos ha ido reduciendo progresivamente, dando como resultado mutaciones en el patógeno, debido a la alta presión de selección ejercida por el uso continuo de dichas moléculas (Acurio, 2007).

El Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), a través del Proyecto FONTAGRO ANT/RF 16678-RG, realiza el monitoreo y caracterización del agente causal a nivel regional (Chile, Panamá, Argentina y Ecuador); en esta investigación se desarrolló una caracterización fenotípica de poblaciones de *P. infestans*, así se determinaron niveles de sensibilidad de aislamientos del patógeno, provenientes de las provincias de Pichincha, Carchi, Tungurahua, Cotopaxi y Chimborazo a diferentes ingredientes activos, cuyos resultados servirán de base para futuras recomendaciones técnicas de manejo integrado de la enfermedad.

Objetivo

Determinar la sensibilidad de *P. infestans* de muestras obtenidas de zonas papeiras del Ecuador de la región Sierra, frente a siete ingredientes activos cimoxanil, dimetomorf, mandipropamid, metalaxil, propamocarb, clorotalonil y mancozeb.

Metodología

El estudio se realizó en el laboratorio de Control Biológico del Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina (EESC) del INIAP, en dos etapas, en la primera se estandarizó la metodología de laboratorio a ser utilizada y en la segunda se realizaron las pruebas de sensibilidad de los aislamientos de *P. infestans* a los fungicidas evaluados.

Para la evaluación de la sensibilidad a fungicidas de poblaciones de *P. infestans*, se adaptó el protocolo propuesto por Edel & Sierotzk, (2007) a las condiciones del laboratorio del INIAP, para lo cual se desarrollaron pruebas preliminares ajustando los procedimientos. Una vez que se consiguió realizar las pruebas preliminares con éxito, se inició con el estudio.

Se evaluaron 20 aislamientos del patógeno, provenientes de las provincias de Pichincha, Carchi, Tungurahua, Cotopaxi y Chimborazo. Los fungicidas evaluados fueron cimoxanil, dimetomorf, mandipropamid, metalaxil, propamocarb, clorotalonil y mancozeb, diferentes dosis, D0 testigo absoluto (agua destilada/esterilizada + inóculo), D1: 1 (dosis comercial) D2: 1/10 (una décima parte

de la dosis comercial) y D3: 1/100 (una centésima parte de la dosis comercial). La unidad experimental consistió en un disco de folíolo de 15 mm de diámetro de papa variedad Superchola, el experimento se dispuso en DCA con 25 observaciones.

Al quinto día de incubación, se evaluó porcentaje de incidencia de infección, porcentaje de severidad de infección, intensidad de esporulación y concentración media efectiva (CE50) para determinar la sensibilidad de poblaciones de *P. infestans*.

Resultados

Entre los principales resultados tenemos que, en el análisis de varianza para severidad de infección, estableció diferencias estadísticas significativas al 5% para ingredientes activos, dosis, aislamientos y sus interacciones. Para el factor en estudio ingredientes activos se agruparon en cinco rangos. En el primer rango está clorotalonil con 28.94 % de severidad de infección. Por el contrario, cimoxanil y metalaxil ocupan el último rango de severidad de infección con un promedio de 57.67% y 56.99% respectivamente. En cuanto al factor en estudio dosis, se agruparon en cuatro rangos. En el primer rango se ubicó la dosis comercial (alta) con un valor promedio de 13.06 % de severidad de infección, hubo mejor control de *P. infestans*; mientras que, la dosis baja con un valor promedio de 48,03 % no fue eficaz. Para aislamientos, se agruparon en 11 rangos. El aislamiento M1 (El Ángel), presentó un valor promedio de 32,48% de severidad de infección ubicándose en el primer rango, por el contrario, el M20 (Totoras), presentó el valor promedio más alto (79,41%). En la interacción de ingredientes activos por dosis, los tratamientos se agruparon en 3 rangos. En el primer rango se ubicó mancozeb y clorotalonil con sus respectivas dosis. En el caso de mancozeb en las dosis: comercial (alta), media y baja se obtuvo un valor promedio de 0.7%, 7.7% y 15.6% de severidad, respectivamente. En el mismo rango se encontró clorotalonil en las dosis: comercial (alta), media y baja se obtuvo un valor promedio de 4.8%, 2% y 9%, respectivamente.

En cuanto a la concentración media efectiva (CE50), se obtuvo para cimoxanil, en 20 aislamientos de *P. infestans*, que el 15% de la población del patógeno fue muy resistente con una CE50 > 100 mg/l,

siendo estos aislamientos provenientes de la provincia de Carchi; el 30% de aislamientos fue resistente con una CE50 desde 60.12 hasta 71.71 mg/l; el 55% fue sensible con una CE50% desde 1.27 hasta 55.4mg/l y no se encontraron poblaciones de *P. infestans* muy sensibles a cimoxanil. En la evaluación de metalaxil, en los 20 aislamientos dio como resultado un 68% muy resistentes con una CE50 >100 mg/l, el 15% resistente con una CE50 que va desde 62.19 hasta 99.9 mg/l, el 12% sensibles con una CE50 desde 2.59 hasta 52.75 mg/l y el 5% muy sensible 16 menores a 1 mg/l. El ingrediente activo clorotalonil en los 20 aislamientos dio como resultado el 10% sensibles con una CE50 desde 4.80 hasta 6.92 mg/l y el 90% muy sensibles con una CE50 < a 1 mg/l.

Se estandarizó la metodología, adaptada del protocolo de Edel y Sierotzk del 2007, a las condiciones de laboratorio de la EESC (INIAP), finalmente, se trabajó con una concentración de 20 000 esporangios/ml para la inoculación de *P. infestans*, las tres dosis utilizadas fueron: alta (comercial), media y baja. Las evaluaciones se realizaron a los cinco días de haber aplicado la inoculación en incubación a 18°C con fotoperíodos de 8 horas, siempre comparando con testigos absolutos (testigo con aislamiento sin fungicida y testigo solo con agua destilada esterilizada).

Conclusiones

La aplicación de ingredientes activos de contacto sigue siendo efectiva, de acuerdo a la sensibilidad presentada por el patógeno en la evaluación del porcentaje de incidencia, porcentaje de severidad e intensidad de esporulación a las dosis probadas; mientras que, una parte de la población del patógeno evaluada fue resistente a los ingredientes activos sistémicos, específicamente cimoxanil y metalaxil.

En la evaluación de la sensibilidad *in vivo* de 20 aislamientos de *P. infestans* a los siete ingredientes activos en la papa, variedad Superchola, se encontró tres aislamientos M (3,4,5) con valores promedio >100gm/l, es decir, fueron muy resistentes para cimoxanil y los aislamientos M (1,2,3,5,6,8,10,13,14,15,16,18,20) con valores promedio >100gm/l fueron muy resistentes para metalaxil. Para mancozeb y clorotalonil se encontró 18 aislamientos muy sensibles.

Recomendaciones

Mediante el estudio realizado se recomienda el uso de ingredientes activos de contacto o preventivos antes de presentar signos o síntomas de tizón tardío, en cada ciclo del cultivo se debe realizar rotación para fomentar la combinación de ingredientes activos por su modo y mecanismos de acción para evitar resistencia en las poblaciones de *P. infestans* en las zonas paperas del Ecuador, de esta manera se podrá prolongar el uso de las moléculas. Si existe presencia de la enfermedad, se recomienda usar fungicidas que contengan ingredientes sistémicos, en combinación de ingredientes activos de contacto, sin utilizar de forma excesiva los ingredientes metalaxil y cimoxanil, para evitar el incremento de la resistencia a estas moléculas.

Bibliografía

- Acurio, R. (2007). Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe (W. Bettiol, M. Rivera, P. Mondino, J. Montealegre, & Y. Colmenárez (eds.)).
<http://ugi.espe.edu.ec/ugi/wp-content/uploads/2014/05/Controlbiológicode enfermedades de plantas>.
- Edel, D., & Sierotzk, H. (2007). Validated routine method for labs equipped with microtiter plate technique. In Fungicide resistance action committee (FRAC).
https://www.frac.info/docs/default-source/monitoring-methods/approvedmethods/phytin-in-vivo-method-syngenta-2007-v1.pdf?sfvrsn=499a419a_4&sfvrsn=499a419a_4
- Escalante, M., & Farrera, R. (2004). Epidemiología del tizón tardío (*Phytophthora infestans* Mont de Bary) de la papa en zonas productoras del estado Táchira Venezuela.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_artt
- FAO. (2018). Producción de papa mundial. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Forbes, G. A., Pérez, W., & Andrade Piedra, J. (2014). Evaluación de la resistencia en genotipos de papa a *Phytophthora infestans* bajo condiciones de campo: Guía para colaboradores internacionales. <https://doi.org/10.4160/9789290604501>

INEC, ESPAC, & MAG. (2018). Ficha de cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.).

<http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/papa>

Oyarzún, P. J., Taípe, J. A., & Forbes, G. A. (2001). *Phytophthora infestans* su actividad y particularidades en el Ecuador.

https://nanopdf.com/download/phytophthora-infestanssu-actividad-y-particularidades-en-el_pdf

Pérez, W., & Forbes, G. (2008). El tizón tardío de la papa (Centro Internacional de la Papa (ed.)).

Cipotato. <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/08/004271.pdf>

Actividad 9.

Caracterización de especies del género *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae), asociados al cultivo de maíz en las provincias de Bolívar, Cañar, Azuay y Loja

Responsable: Sandra Victoria Garcés Carrera., Ph.D.

Equipo multidisciplinario:

Catalina Bravo Zúñiga., Mg. DNPV/EESC

Norma Quillay., Ing. Agr. DNPV/EEA

Verónica Quimbiamba, Ing. Agr. UDVT/Bolívar

Sebastián Padrón Martínez., Ph.D. UDA

Antonio León Reyes., Ph.D. USFQ

Colaboradores:

José Falcón, Biól. UDA

Darío Ramírez, M. Sc. USFQ

Antecedentes:

El género *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae) incluye alrededor de 30 especies descritas por Pogue, 2002, alrededor del mundo en regiones tropicales y templadas, algunas consideradas

plagas de importancia económica que afectan a varios cultivos como, maíz, fréjol, arroz, algodón, sorgo, soya o tomate, ornamentales, entre otros; algunas de las especies que ocasionan daño en los cultivos y la reducción en el rendimiento se encuentran distribuidas en diferentes partes del mundo, *S. littoralis* en el sur de Europa, África y Medio Oriente, la especie *S. litura* se reporta en el Medio Oriente, la mayor parte de Asia, región de Irán, Australia y se extiende hasta el oeste de Hawai y sur del Océano Pacífico, *S. eridania* se presenta desde el sur de Estados Unidos, México hasta el Caribe y al sur hasta Argentina, no así la especie *S. frugiperda* que se distribuye ampliamente en todo el continente Americano, (Andrews, 1988; Nagochi, Brambila and Meagher, 2011; Johnson, 1987; Johnson, 1988) citados por Shashank, (2015); en Ecuador, se reporta la especie, *S. frugiperda* como plaga de importancia económica en el cultivo de maíz, (Paliz y Mendoza, 1983), citados por Evans and Stansly (1990).

La identificación de las especies se realiza aplicando bases o características morfológicas mediante el uso de claves taxonómicas para estados inmaduros (larvas) y adultos. Pogue (2002), describió 30 especies del género *Spodoptera*, en base a 24 características morfológicas, 8 clados monofiléticos conteniendo cada uno de 2 a 5 especies; así también, elaboró claves taxonómicas para estados inmaduros (larvas) para 20 especies, para la identificación en estado adulto las claves taxonómicas, se basaron en la distribución geográfica, morfología externa y características de la genitalia.

Adicionalmente, al uso de claves taxonómicas para la identificación de las especies, es necesario la aplicación de técnicas moleculares como el uso de un fragmento del gen mitocondrial CO1, (Nagoshi et al., 2011; Herbert, et al., 2013), para especies crípticas o similares morfológicamente, que agiliza la identificación de las especies en cualquier estado de desarrollo del insecto, sin que esto sustituya a la taxonomía o filogenia.

Esta actividad corresponde a la continuación de las actividades realizadas desde el 2017, en las que se verificó la existencia de un complejo de especies del género *Spodoptera* en el cultivo de maíz suave y duro en base al análisis de la genitalia de 503 especímenes, distribuidas en altitudes entre los 1042 m a 2932 m en las provincias de Bolívar, Cañar, Azuay y Loja.

Objetivos:

Objetivo General

Caracterizar las especies del género *Spodoptera* asociadas al cultivo de maíz en las provincias de Bolívar, Cañar, Azuay y Loja, a fin de contar con información precisa para en lo posterior desarrollar estrategias de manejo de las especies.

Objetivos específicos

Identificar las especies del género *Spodoptera* en base a caracteres morfológicos.

Determinar las especies del género *Spodoptera* aplicando un fragmento del gen mitocondrial CO1 (Citocromo c Oxidasa, Subunidad 1).

Determinar la relación filogenética de especies del género *Spodoptera*, en muestras recolectadas en las cuatro provincias.

Determinar la morfometría de las especies identificadas.

Metodología:

Cumplimiento de normas

INIAP

El protocolo: *Caracterización de especies del género Spodoptera (Lepidoptera: Noctuidae), asociados al cultivo de maíz en las provincias de Bolívar, Cañar, Azuay y Loja*, fue aprobado por el Comité Técnico de la Estación Experimental Santa Catalina el 18 de julio, 2017 como refiere el Memorando Nro. INIAP-EESC_DIR-2017-0396-MEM.

Ministerio del Ambiente y Agua (MAAE)

Previo al inicio de actividades del proyecto se realizaron las gestiones correspondientes para la autorización de recolecta, manipulación y acceso a recursos biológicos y/o genéticos en el Ministerio

del Ambiente y Agua (MAAE), a fin de realizar la identificación taxonómica y molecular de los especímenes recolectados en las cuatro provincias.

A fin de organizar y sistematizar la información generada en las actividades de investigación, se ha elaborado una base de datos en formato Excel, que contiene: código del INIAP, clasificación taxonómica, georreferenciación, código de la genitalia, código del ADN, colector, método de colección, método de preservación, código del permiso del MAAE, entre otra información necesaria para la identificación taxonómica y molecular; todos los especímenes se conservan en el Museo de Zoología de la Universidad del Azuay.

Identificación taxonómica

Para la identificación taxonómica, se procedió a realizar la disección de los especímenes machos para la obtención de las genitalias, que fueron depositadas en tubos Eppendorf 1.5 ml., que contienen glicerina y el código de genitalia y conservadas de acuerdo a la metodología descrita por Pogue (2002) y EPPO (2015).

Identificación molecular

La identificación con técnicas moleculares de 180 muestras se realizó en el Centro de Canadá para DNA barcoding de la Universidad de Guelph, de acuerdo a la metodología descrita en los protocolos de Canadian Centre for DNA Barcoding (CCDB).

Validación de resultados

En base a los resultados de la identificación con técnicas moleculares, se está en proceso de validar la información, comparando las características morfológicas de las especies identificadas con los 503 especímenes de la colección.

Resultados:

Una vez finalizado el proceso de validación de la información, se contará con el número total de especies identificadas y confirmadas con la identificación taxonómica, de las especies asociadas al cultivo de maíz en las provincias de Bolívar, Cañar, Azuay y Loja.

Conclusiones:

Se dispone de una colección de 503 especímenes del género *Spodoptera* codificados en una base de datos en Excel.

Se dispone de toda la documentación necesaria, aprobadas por el Ministerio del Ambiente para la investigación y envío de muestras a los laboratorios del exterior para la identificación con técnicas moleculares.

Recomendación:

La actividad de caracterización morfométrica de las especies identificadas, se realizará en el primer semestre del 2022.

Referencias:

Evans, D. and A. Stansly. (1990). Weekly Economic Injury Levels for Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Infestation of Corn in Lowland Ecuador. *J. Econ. Entomol.* 83(6): 2452-2454.

European and Mediterranean Plant Protection Organization (OEPP/EPPO). (2015). PM 7/124 (1) *Spodoptera littoralis*, *Spodoptera litura*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera eridania*. *Bulletin OEPP/EPPO* 45, 410–444. ISSN 0250-8052. doi: 10.1111/epp.12258.

Hebert, P., de Waard, J., Zakharov, E., Prosser, S., Sones, J., Mckweon, J.....La Salle, J. (2013). A DNA 'Barcode Blitz': Rapid Digitization and Sequencing of a Natural History Collection. *PLoS ONE*, 8(7), e68535. doi:10.1371/journal.pone.0068535.

Canadian Centre for DNA Barcoding (CCDB). (2019). Microplate and data submission package sampling kit instructions. University of Guelph, Canadá.

Nagoshi, R.N., Brambila, J., and R. Meagher. (2011). Use of DNA barcodes to identify invasive armyworm *Spodoptera* species in Florida. *Journal of Insect Science*, 154(11), 1536-2442.

Pogue, M. (2002). A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae).

Philadelphia, USA: The American Entomological Society. Andrews K. (1988). Latin American research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*, 71(4): 630-653.

Shashank, P., Thomas, A and V. Ramamurthy. (2015). DNA Barcoding and Phylogenetic Relationships of *Spodoptera litura* and *S. exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*, 98(1):223-228.

Actividad 10.

Caracterización genética de poblaciones de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en Ecuador.

Responsable: Sandra Victoria Garcés Carrera., Ph.D.

Equipo multidisciplinario:

Bernardo Navarrete Cedeño., M.Sc. Entomología-EEP

Ernesto Cañarte Bermúdez., Ph.D. Entomología-EEP

Ramón Solórzano., Ing. Agr. Entomología-EEP

Jimmy Pico Cedeño., M.Sc. Fitopatología-EECA

Catalina Bravo Zúñiga, Mg., Agroecología-EEA

Joanna Allauca Vizúete., Ing. Agrónoma-Granja El Socavón/INIAP-Galápagos.

Colaboradores:

Verónica Quimbiamba., Ing. Agr.-UDT-Bolívar

María Nieto., Ing. Agr.-UDT-Imbabura

José Ullauri., M.Sc. –Granja El Almendral-Loja

Antecedentes:

El gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda*, (J. E. Smith) (Lepidóptera: Noctuidae), es nativo del hemisferio occidental que recientemente se ha convertido en un problema global, invadiendo África, Asia y Australia. Esta especie tiene una amplia gama de hospederos y capacidad de migración a larga distancia con una prospección a la generación de resistencia a pesticidas que lo convierten en una amenaza invasiva y en una plaga difícil de controlar. Mientras que la migración de *S. frugiperda* se ha estudiado extensamente en América del Norte, donde las migraciones anuales de miles de kilómetros son normales, los patrones de migración en América del Sur son menos comprendidos. Para abordar éste tema, es importante realizar la caracterización genética de poblaciones de *S. frugiperda* en Ecuador, que no ha sido extensamente estudiada (Nagoshi et al., 2020).

Objetivos:

General

Caracterizar genéticamente las poblaciones de *Spodoptera frugiperda*, de las principales zonas productoras de maíz y arroz en el Ecuador, para el desarrollo de estrategias de manejo de la plaga.

Objetivos Específicos

Identificar los biotipos de *S. frugiperda* mediante técnicas moleculares en Ecuador

Determinar la movilidad o migración de subpoblaciones o biotipos de *S. frugiperda* en cultivos de arroz y maíz.

Metodología:

Cumplimiento de normas

INIAP

El protocolo: Caracterización genética de poblaciones de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en Ecuador, fue aprobado por el Comité Técnico de la Estación Experimental Santa Catalina el 05 de enero, 2018, como refiere el Memorando Nro. INIAP-EESC_DIR-2018-1215-MEM del 15 de noviembre, 2018 y el Acta de aprobación.

Ministerio del Ambiente y Agua (MAAE)

Se realizó la coordinación de todas las actividades de colectas de muestras de larvas de *S. frugiperda* en las 11 provincias con los investigadores que formaron parte del equipo multidisciplinario; la selección de muestras, empaque y embalaje de las muestras, que fueron enviadas al Laboratorio del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica (USDA); gestión de envío, seguimiento y confirmación de la recepción de muestras en USA; seguimiento de las actividades de análisis y gestiones para el cumplimiento de las normativas institucionales y del Ministerio del Ambiente y Agua (MAAE).

Esta actividad corresponde a la continuación de las actividades realizadas desde el 2018 hasta el 2021, en que se publicaron los resultados del análisis de muestras de larvas de *S. frugiperda* colectadas en cultivos de maíz amarillo duro en la provincia de Galápagos.

Muestreo de larvas de *S. frugiperda* (J. E. Smith)

La recolección de las muestras e identificación de los estados larvales de *S. frugiperda*, se realizó de acuerdo a la metodología descrita por (Wagner, et al., 2011); (Peterson 1962), en cultivos de maíz duro en la isla San Cristóbal e isla Santa Cruz. Las larvas recolectadas fueron transportadas de forma individual en micro tubos de 2.0 ml con tapa, que contenían alcohol potable al 95%; se conservaron a 4°C hasta el envío de las muestras al Dr. Rodney Nagoshi, entomólogo y especialista en genética de insectos, de los laboratorios del USDA-ARS, en el Estado de Florida-Estados Unidos, en donde se realizó la caracterización genética con técnicas moleculares de las poblaciones de *S. frugiperda* recolectadas.

Resultados:

Como parte de los resultados, se generó una publicación la misma que se describe en el numeral 7.

Para la distribución de frecuencia de los haplotipos de la subpoblación maíz o C-strain en Galápagos, el 98% de larvas expresaron haplotipos de la subpoblación de maíz y solo se encontraron dos larvas de la subpoblación de arroz en la isla Santa Cruz. Esta composición predominante de la subpoblación de maíz en ambas islas, es similar a la observada en el Ecuador continental y en Argentina. Estos resultados sugieren diferencias en comportamiento de migración entre las dos subpoblaciones de *S. frugiperda*, que parece estar relacionadas con las diferencias en las preferencias de la planta huésped.

Conclusiones:

Este estudio, es la primera descripción genética de poblaciones de *S. frugiperda* en la provincia de Galápagos y en Ecuador continental.

El predominio de una sola subpoblación de *S. frugiperda*, en este caso la subpoblación de maíz en las islas, indica ciertos rasgos deletéreos, como los que aumentan la resistencia a los pesticidas, podrían extenderse rápidamente dentro o fuera de la provincia de Galápagos.

La migración natural de *S. frugiperda* desde el continente hasta la provincia de Galápagos, es poco probable, lo que sugiere que la mayoría, si no todas, las introgresiones del continente hacia Galápagos, se realiza a través del transporte asistido que se descarga en el puerto de entrada en la isla San Cristóbal.

Referencia:

Nagoshi, R., Allauca Vizúete, J., Murúa, G & Garcés-Carrera, S. (2021). Comparisons of fall armyworm haplotypes between the Galápagos Islands and mainland Ecuador indicate limited

migration to and between islands. Scientific Reports 11:3457 |

<https://doi.org/10.1038/s41598-021-83111-5>.

Actividad 11.

Categorías de resistencia en germoplasma de *Phaseolus* spp., a la plaga, *Acanthoscelides obtectus*

Say,

Responsable: Sandra Victoria Garcés Carrera., Ph.D.

Equipo multidisciplinario:

Ángel Murillo., M.Sc. PRONALEG-GA

Diego Rodríguez., M.Sc. PRONALEG-GA

Miguel Guamán., Agr. EEA

Laura Vega., Ing. Agr. PRONALEG-GA

Antecedentes:

El fréjol es una de las leguminosas de grano comestible más importante en el Ecuador, se consume como grano en seco así como tierno, en todas las regiones del país (Peralta, E., Mazón, N., Murillo, A. y Rodríguez, D. 2014). En condiciones de almacenamiento, se reportan pérdidas de hasta un 76% en zonas productoras de los valles del Norte de Ecuador (Ernest et al., 2008), considerando una plaga de importancia económica, debido al daño que ocasiona a los granos de fréjol, afectando la comercialización en grano seco y germinación de la semilla (Schoonhoven, 1976; Ernest et al., 2008).

Para el manejo de la plaga, los agricultores aplican pesticidas y fumigantes de alta toxicidad, que ocasionan algunas limitaciones, como incremento de costos de producción, desarrollo de resistencia de las poblaciones de la plaga al producto y contaminación a los agricultores y al ambiente con la consecuente reducción y eliminación de la fauna benéfica; ante tal situación, es necesario aplicar

otras alternativas para un manejo integrado de la plaga, que sean compatibles con otras estrategias de manejo, que permitan beneficios ecológicos, económicos y regulen las poblaciones de la plaga como la resistencia genética de las plantas hospederas (HPR-Host Plant resistance).

Varias investigaciones se han desarrollado para determinar resistencia a *A. obtectus* Say., en germoplasma de especies del género *Phaseolus*, como *P. acutifolius* L., *P. coccineus* L., *P. polyanthus* L., *P. lunatus* L., reportándose mayor resistencia en accesiones de *P. acutifolius* L., y *P. lunatus* L. con potencial para transferir genes de resistencia a *P. vulgaris* L (Dobie, P., Endy, J., Hermanj, C., Adgham, A., Wood, A and Gatehouse, A. 1990). Resultados de otros estudios demuestran que otras especies, *P. coccineus* L., y *P. polyanthus* L., entre otras, demostraron 70% de toxicidad hacia las tres importantes plagas de la familia Bruchidae, presentando toxicidad en las accesiones parental y en los cruzamientos (Simmonds, M., Blaney, W., and Birch, A. 1989).

En esta investigación, se busca determinar las categorías de resistencia del germoplasma de *Phaseolus vulgaris* al gorgojo, procedentes de la Universidad de Puerto Rico, y otras especies del género *Phaseolus*, para identificar las fuentes con mayor resistencia genética, y posteriormente introducir mediante cruzamientos esta resistencia en variedades comerciales de fréjol de Ecuador, como parte de las actividades del proyecto: Generación de líneas de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) con resistencia genética al gorgojo común (*Acanthoscelides obtectus* Say.) (Coleoptera: Chrysomelidae).

Objetivos:

General

Generar líneas de fréjol arbustivo (*P. vulgaris* L.) con resistencia genética al gorgojo común (*A. obtectus*) que posean alto rendimiento y grano de calidad comercial.

Objetivos específicos

Determinar las categorías de resistencia en germoplasma de *Phaseolus* spp., a la plaga, *A. obtectus* Say.

Metodología:

Cumplimiento de normas

INIAP

El protocolo: Generación de líneas de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) con resistencia genética al gorgojo común (*Acanthoscelides obtectus* Say)(Coleoptera: Chrysomelidae), fue aprobado por el Comité Técnico de la Estación Experimental Santa Catalina el 9 de julio, 2018 como refiere el documento Hoja de firmas para aprobación de proyectos (protocolos).

Ministerio del Ambiente y Agua (MAAE)

Previo al inicio de actividades del proyecto, y a fin de cumplir con la normativa vigente, se realizaron las gestiones necesarias en el Ministerio del Ambiente (MAE), para obtener la autorización de inclusión del proyecto en el programa denominado: “Estudio de caracterización, bioecología y desarrollo de componentes de manejo integrado de cultivos del Ecuador” signado con el Nro. MAE-DNB-CM-2015-0024, suscrito el 13 de junio de 2016, obteniéndose la autorización del MAE, como consta en el Oficio Nro. MAE-DNB-2018-0801-O del 23 de agosto, 2018.

A fin de realizar las colectas de semilla de las especies, *P. coccineus* y *P. lonatus*, en las provincias de Cañar, Azuay y Loja, se obtuvo la autorización del MAE mediante documento Oficio Nro. MAE-DNB-2019-1010-O del 07 de noviembre, 2019. Previo al envío de las muestras a la Estación Experimental Santa Catalina (EESC), se obtuvieron la autorizaciones de colecta y movilización correspondientes en las agencias del Ministerio del Ambiente de cada provincia.

Poblaciones de *A. obtectus* Say.

En el primer trimestre del 2021, se colectó una población de *A. obtectus* en granos de fréjol en la Estación Experimental Santa Catalina; confirmados, el género y especie, *Acanthoscelides obtectus*

Say, se procedió a realizar la cría de la población en una cámara de clima constante (Memmert HPP) a temperatura ($27 \pm 2^\circ\text{C}$), humedad relativa ($70\% \text{ HR} \pm 2$) y 12 hrs de oscuridad/12 hrs de luz al 10% de intensidad, en recipientes de vidrio que contenían granos de fréjol de la variedad INIAP 425 Blanco Fanesquero como alimento y de acuerdo a las metodologías descrita por (Baldin y Lara, 2008) (Ramírez y Suris, 2015), para contar con suficiente número de insectos para los bioensayos.

Colecta de germoplasma de *Phaseolus* spp.

A fin de identificar fuentes de resistencia genética en especies del género *Phaseolus*, se realizó la colecta de semillas de las especies, *P. lunatus* y *P. coccineus* en las provincias de Cañar, Azuay y Loja, con antecedentes importantes en diversidad de especies de *Phaseolus* (Debouck 1990) (Debouck, D., Toro, O., Paredes, O., Johnson, W and P. Guepts. 1993). Las muestras de semillas de las poblaciones silvestres fueron recolectadas en julio, agosto y octubre del año 2019, cuando las plantas se encontraban en madurez fisiológica y de acuerdo a la metodología descrita por (Monteros, A., Tacán, M., Peña, C., Tapia, C., Paredes, N., Lima, L. 2018), con la colaboración del Agr. Miguel Guamán, técnico de la Estación Experimental del Austro (EEA); posteriormente, transportadas en fundas de papel, cerradas y etiquetadas y con una humedad del grano de aproximadamente el 15%. En la Tabla 1, se describe la información de la colecta de las semillas.

Tabla 1. Número de muestra, fecha de colecta, ubicación, georeferencia y número de semillas colectadas de las especies de *Phaseolus*, en las provincias de Cañar, Azuay y Loja, 2019.

Muestra No.	Fecha de colecta	Provincia	Cantón	Parroquia	Localidad	Latitud	Longitud	Altitud (msnm)	No. semillas
1	25/07/2019	Azuay	Paute	Dug dug	Shinques	-2.75340579	-78.72844179	2254	99
2	25/07/2019	Azuay	Paute	Tomebamba	Ushusloma	-2.75783347	-78.69936897	2390	115
3	15/07/2019	Azuay	Paute	Tomebamba	Guagal bajo	-2.75784948	-78.69366041	2235	352
4	25/07/2019	Cañar	Azoguez	Zhoray	Zhoray centro	-2.57702876	-78.65526658	2435	365
5	25/07/2019	Cañar	Azoguez	Zhoray	San Jacinto	-2.57485171	-78.65607052	2308	371
6	25/07/2019	Cañar	Azoguez	Zhoray	Buenos Aires, Rumipamba	-2.57314569	-78.63305502	2610	897
7	31/07/2019	Loja	Saraguro	Tenta	Sauce,Loma de Moras	-3.63581100	-79.28704710	2627	139
8	31/07/2019	Loja	Saraguro	Tenta	Sauce,Loma de Moras	-3.63581100	-79.28704710	2627	77
9	31/07/2019	Loja	Saraguro	Tenta	Sauce,Loma de Moras	-3.63581100	-79.28704710	2627	116
10	31/07/2019	Loja	Saraguro	Tenta	Sauce,Loma de Moras	-3.63581100	-79.28704710	2627	53
11	31/07/2019	Loja	Saraguro	Tenta	Sauce,Loma de Moras	-3.63581100	-79.28704710	2627	150
12	31/07/2019	Loja	Saraguro	Tenta	Sauce,Loma de Moras	-3.63581100	-79.28704710	2627	669
13	03/08/2019	Cañar	Azoguez	San Miguel	San Juan Bosco	-2.78916667	-78.84111111	2617	117
14	03/08/2019	Cañar	Azoguez	San Miguel	San Juan Bosco	-2.78916667	-78.84111111	2617	77
15	03/08/2019	Cañar	Azoguez	San Miguel	San Juan Bosco	-2.78916667	-78.84111111	2617	78
16	03/08/2019	Cañar	Azoguez	San Miguel	San Juan Bosco	-2.78916667	-78.84111111	2617	67
17	09/07/2019	Azuay	Cuenca	Sayausi	Sayausi Centro	-2.86666667	-79.06666667	2748	339
18	15/10/2019	Cañar	Azoguez	Zhoray	San Antonio	-2.59432691	-78.62927669	2379	679
19	15/10/2019	Cañar	Azoguez	Zhoray	San Antonio	-2.59432691	-78.62927669	2379	282
20	15/10/2019	Cañar	Azoguez	Zhoray	San Antonio	-2.59432691	-78.62927669	2379	275
21	18/10/2019	Loja	Saraguro	San Lucas	San Lucas	-3.74111111	-79.2577778	2469	440
22	15/10/2019	Cañar	Azoguez	Zhoray	San Antonio	-2.76916667	-78.92027778	2692	133
23	09/07/2019	Azuay	Gualaaceo	El Cabo	Bullcay	-2.86581249	-78.77611942	2238	132

Fuente: Agr. Miguel Guamán, EEA, 2019.]

Resultados:

Debido a la poca cantidad de semillas colectadas, que variaron de 53 a 800 semillas por población, se realizó la multiplicación de semillas en la Granja Experimental Tumbaco en septiembre, 2021, a fin de contar con suficiente semilla para los bioensayos de resistencia y para el ingreso al banco de semillas del Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos (DENAREF) en la Estación Experimental Santa Catalina (EESC). Adicionalmente, se obtendrá información de la planta en la etapa vegetativa, floración y madurez fisiológica para determinar la identificación de las especies colectadas de *Phaseolus*, con base en los tratados taxonómicos de (Delgado-Salinas 1986) y (Freytag y Debouck 2002) y con la participación de los técnicos del PRONALEG-GA.

Conclusiones:

De las 23 muestras, un grupo de 13 muestras con 21 semillas cada una, multiplicadas mediante siembra directa.

Se cuenta con germoplasma de especies de *Phaseolus* para evaluar resistencia al gorgojo del fréjol.

Recomendación:

Una vez que se cuente con la suficiente cantidad de semilla multiplicada, se re-programarán las actividades, como la entrega de semillas al DENAREF y los bioensayos.

Referencias:

Dobie, P., Endy, J., Hermanj, C., Adgham, A., Wood, A and Gatehouse, A. (1990). New sources of resistance to *Acanthoscelides obtectus* (Say) and *Zabrotes subfasciatus* Boheman (Coleoptera: Bruchidae) in mature seeds of five species of *Phaseolus*. *J. Stored Prod. Res.* 26(4):117-186.

Delgado Salinas, A., A. Bonet, and P. Gepts. (1988). The wild relative of *Phaseolus vulgaris* in Middle America. Pages 163-184 in P. Gepts, ed., Genetic resources of *Phaseolus* beans. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.

Debouck, D (1990). "Collecting *Phaseolus* germplasm in Ecuador", The International Board for Plant genetic Resources (IBPGR), Rome, Italy, Mimeographed, 18 p. in Spanish.

Debouck, D., Toro, O., Paredes, O., Jjohnson, W and P. Gepts (1993). Genetic diversity and ecological distribution of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) in northwestern South America. *Economic Botany*, 47: 409-423. DOI: 10.1007/BF02907356

Ernest, E., Falconí, E., Peralta, E., James K. (2008). Encuesta a productores para orientar el fitomejoramiento de frijol en Ecuador, *Agronomía Mesoamericana* (1) 19 07-18 ISSN 1021 7444. 12p.

Freytag, G., Debouck, D. (2002). Taxonomy, distribution, and ecology of the genus *Phaseolus* (Leguminosae-papilionoideae) in North America, Mexico and Central America. Botanical Research Institute of Texas (BRIT), Forth Worth, TX, USA. 298 p. (Sida, botanical miscellany no. 23).

Monteros, A., Tacán, M., Peña, C., Tapia, C., Paredes, N., Lima, L. (2018). Guía para el manejo de los recursos fitogenéticos en Ecuador. Protocolos. Publicación miscelanea No. 432. INIAP Estación

Experimental Santa Catalina. Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos, Mejía,
Ecuador.

Peralta, E., Mazón, N., Murillo, A. y Rodríguez, D. (2014). Manual agrícola de granos andinos:
chocho, quinua, amaranto y ataco. Cultivos, variedades y costos de producción. Publicaciones
Miscelánea N° 69. 4ª Edición. Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos, Estación
Experimental Sana Catalina, INIAP. Quito, Ecuador.

Simmonds, M., Blaney, W., and Birch, A. (1989). Legume Seeds: the Defenses of Wild and Cultivated
Species of *Phaseolus* against Attack by Bruchid Beetles. *Annals of Botany*. 63:177-184.

Schoonhoven, A. (1976). Pests of stored beans and their economic importance in Latin America. In:
Proceedings of the symposium on tropical stored product entomology, 15th international
congress of entomology, 19–27 August 1976, Washington DC, Entomological Society of
America, College Park, MD.

Schoonhoven, A y Cardona, C. (1982). Low Levels of Resistance to the Mexican Bean Weevil in Dry
Beans. *Journal of Economic Entomology*, Volume 75, pp 567–569

Actividad 12.

**Caracterización de la resistencia a *Empoasca kraemeri* Ross & Moore, (Hemíptera: Cicadellidae),
en variedades de fréjol arbustivo (*Phaseolus vulgaris* L.).**

Responsable: Sandra Victoria Garcés Carrera., Ph.D.

Equipo multidisciplinario:

Ángel Murillo., M.Sc. PRONALEG-GA

Nelson Mazón., Mg. PRONALEG-GA.

Diego Rodríguez., M.Sc. PRONALEG-GA

Laura Vega., Ing. Agr. PRONALEG-GA

Antecedentes:

El fréjol común (*Phaseolus vulgaris* L.), es uno de los granos de importancia que forma parte de la dieta alimentaria, se destina al consumo directo con diversos preparados; además, es una fuente de ingresos para los pequeños agricultores en las regiones de la Sierra y Costa del Ecuador. La contracción en superficie sembrada y cosechada, está determinada por varios factores, entre los cuales está, la presencia de plagas, como un serio limitante en la producción, como es el insecto plaga conocido como lorito verde, *Empoasca kraemeri* Ross & Moore, importante en regiones tropicales en América Latina que afecta al género *Phaseolus* (Murguido, 1995; Hallman, 1984). El efecto de la plaga causa reducciones considerables en tres componentes del rendimiento: número de vainas por planta, número de granos por vaina y el peso del grano (García, 1981); en Ecuador, se reporta la presencia de dicha plaga en cultivos de fréjol arbustivo en las provincias de Imbabura, Carchi, Cañar, Azuay y Loja (Guillén, F., Guamán, M y Minchala, L. 1998; Peralta, E., Murillo, A., Mazón, N., Monar, C., Pinzón, J y Rivera, M. 2012; Peralta, E.; Murillo A., Mazón, N.; Pinzón, J y Villacrés, E. 2013). En el manejo y control de la plaga los agricultores únicamente aplican pesticidas, es frecuente realizar entre tres a cuatro aplicaciones en cada ciclo del cultivo de fréjol arbustivo (Peralta et al., 2012), por lo que, se precisa aplicar otras alternativas para un manejo integrado de la plaga, como la resistencia genética de las plantas hospederas (HPR-Host Plant resistance). Los resultados de las investigaciones demuestran la posibilidad de obtener fuentes de resistencia a la plaga en el germoplasma de *P. vulgaris* L., que posteriormente permitirá mediante cruzamientos introducir las fuentes de resistencia identificadas en variedades comerciales de fréjol arbustivo.

En virtud de lo anterior, la presente investigación se orienta, a determinar si las siete variedades de fréjol arbustivo a ser evaluadas, poseen alguna(s) de las categorías de resistencia de antibiosis, antixenosis y tolerancia a la plaga *E. kraemeri*, identificando la resistencia, el programa de mejoramiento genético de Programa de Leguminosas y Granos Andinos (PRONALEG-GA) con el Departamento de Protección Vegetal (DNPV) de la Estación Experimental Santa Catalina (EESC) del INIAP, contarían con germoplasma para realizar los cruzamientos específicos y los resultados se

convertirían en una línea base para desarrollar actividades de investigación para generar variedades resistentes a la plaga y otros artrópodos que afectan al cultivo de fréjol arbustivo.

Objetivos:

General

Caracterizar la resistencia genética a la plaga, *Empoasca kraemeri* Ross & Moore, en variedades de fréjol arbustivo (*P. vulgaris* L.), a fin de generar fuentes de resistencia genética a esta plaga.

Específicos

Determinar las categorías de resistencia genética de antibiosis, antixenosis y tolerancia en seis variedades de *P. vulgaris* L., a *E. kraemeri* Ross & Moore.

Metodología:

Cumplimiento de normas

INIAP

El protocolo: Caracterización de la resistencia a *Empoasca kraemeri* Ross & Moore, (Hemíptera: Cicadellidae), en variedades de fréjol arbustivo (*Phaseolus vulgaris* L.), fue aprobado por el Comité Técnico de la Estación Experimental Santa Catalina el 30 de octubre, 2018 como refiere el documento Hoja de firmas para aprobación de proyectos (protocolos).

Ministerio del Ambiente y Agua (MAAE)

Previo al inicio de actividades del proyecto, y a fin de cumplir con las normas vigentes, se realizaron las gestiones en el Ministerio del Ambiente y Agua (MAAE), para obtener la autorización de inclusión del proyecto en el Programa denominado: “Estudio de caracterización, bioecología y desarrollo de componentes de manejo integrado de cultivos del Ecuador” signado con el Nro. MAE-DNB-CM-2015-0024, suscrito el 13 de junio de 2016, obteniéndose la autorización del MAE como consta en el Oficio Nro. MAE-DNB-2019-0175-O del 15 de febrero, 2019.

Implementación del ensayo

La investigación se realizó en la Granja Experimental INIAP-YACHAY, ubicada en la provincia de Imbabura, cantón Urcuquí, parroquia Tumbabiro, durante el ciclo de siembra de febrero a junio, 2021; se aplicó un diseño de Bloque Completo Randomizado con 4 repeticiones por tratamiento, en la que se evaluaron ocho variedades comerciales de fréjol arbustivo, siete variedades generadas por el INIAP y la variedad ICA Pijao, utilizada como uno de los controles resistentes a *E. kraemeri* en programas de mejoramiento genético del CIAT (Hallman, 1984; Voysest, 2000).

Resultados:

No se obtuvieron los resultados previstos para esta actividad, debido: al poco desarrollo de las plantas y la pérdida de las plantas en dos bloques, por el efecto de la alcalinidad del suelo (pH 8.76 a pH 9.05), al presentar un régimen de humedad ústico y bajas precipitaciones, que causa un desequilibrio en la concentración de hidrógeno en el suelo y la reducción del lavado de cationes (Cartagena, 2016); baja presencia de poblaciones del insectos plaga.

Recomendación:

Reprogramar esta actividad seleccionando otra área para la evaluación de la resistencia, que cuente con las condiciones óptimas para el desarrollo del cultivo y un historial de presencia de la plaga en la zona.

Referencias:

García, J. (1981). Mejoramiento del Fríjol Común por resistencia a *Empoasca kraemeri*. CIAT, Serie SE-17-81.

Guillén, F., Guamán, M y Minchala, L. (1998). Alternativas para el combate de *Empoasca kraemeri*, en el cultivo de fréjol arbustivo en el Valle de Yunguilla, Azuay-Ecuador. Conferencia llevada a cabo en la sexta Reunión de Granos de la zona Andina. RELEZA VI. Santa Cruz-Bolivia.

- Hallman, G. (1984). Resistencia del Fríjol a *Empoasca kraemeri*: un exámen crítico. CIAT- Colombia. Capacitación Científica y Conferencias.
- Murguido, C. A. (1995). Biología, Ecología y lucha contra el saltahoja *Empoasca kraemeri* Ross y *Moore* (Homoptera: Cicadellidae) en el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis de grado. Instituto Nacional de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Ciudad de La Habana, Cuba: 98 p.
- Peralta, E., Murillo, A., Mazón, N., Monar, C., Pinzón, J y Rivera, M. (2012). Manual Agrícola de Fréjol y otras Leguminosas. Cultivos, variedades y costos de producción. *Publicación Miscelánea No. 135* (Segunda impresión actualizada). Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Quito, Ecuador. 70 p.
- Peralta, E.; Murillo A., Mazón, N.; Pinzón, J y Villacrés, E. (2013). Manual Agrícola de Fréjol y otras Leguminosas. Cultivos, variedades y costos de producción. *Publicación Misceláneas N° 135*. Tercera edición. Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos. Estación Experimental Sana Catalina. INIAP. Quito, Ecuador. 70 p.
- Voysest, O. (2000). Mejoramiento genético del fríjol (*Phaseolus vulgaris* L.): legado de variedades de América latina 1930-1999/ Oswaldo Voysest Voysest. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical. No. 321, pag. 54-56.

Actividad 13.

Caracterización de la diversidad y abundancia de artrópodos en la provincia de Galápagos.

Responsable: Sandra Victoria Garcés Carrera., Ph.D.

Equipo multidisciplinario:

Álvaro Monteros., Ph.D. DENAREF

Javier López., Lic. (Biología) Granja El Socavón-INIAP-Galápagos.

Ronal Azuero., Lic. (Biología) ABG-Galápagos

Juanita Mora., Técnico Vigilancia, ABG-Galápagos

Carlos Tupiza., Técnico de vigilancia. ABG-Galápagos

Jeremy DeWaard., Ph.D. Centre for Biodiversity Genomics, University of Guelph

Antecedentes:

Los artrópodos como un grupo importante que domina la fauna terrestre, deben ser tema de estudio de los patrones de variación espacio-temporal, para conocer la estructura de las poblaciones en una determinada área, lo cual permite diseñar estrategias de conservación fundamentadas en bases científicas y restaurar la biodiversidad como en Piñero et al. (2011). De tal manera que, realizar un monitoreo de las poblaciones de artrópodos es una herramienta en el proceso de evaluación de la diversidad; sin embargo, hasta el momento, no se ha logrado evaluaciones exhaustivas, debido a algunos factores, como la falta de especialistas en taxonomía, lo que ha dado lugar a que en el mundo solo alrededor de un millón de especies de insectos han sido identificados, esto sugiere que queda por descubrir el 80 % y que se debe poner mayor énfasis en los taxones menos estudiados, como muchas familias de coleópteros, dípteros e himenópteros, y en partes del mundo mal muestreadas (Stork 2018). Esto significa que realizar estudios morfológicos aplicando claves taxonómicas podría requerir de muchos años para inventariar todas las especies de un área determinada.

Por lo anterior, es necesario aplicar nuevos enfoques o metodologías que permitan acelerar la identificación taxonómica de las especies a gran escala, como la aplicación del código de barras de ADN, mediante el sistema de Número de Índice de Código de Barras (BIN) que automatiza las asignaciones taxonómicas para lo cual se usa una técnica de muestreo simple, efectiva y con una intervención mínima como es el uso de la trampa Malaise que permite recolectar artrópodos. Estas actividades se desarrollan a nivel mundial bajo el Programa Mundial de Trampa Malaise (GMP), que es una colaboración internacional entre el Centre for Biodiversity Genomics, Canadá (CBG) y múltiples contribuyentes de todo el mundo. El programa es el primer paso para la obtención de información espacial y temporal detallada sobre comunidades de artrópodos terrestres en todo el mundo. Hasta la presente fecha, se han secuenciado más de 2 millones de especímenes a través del

GMP, que representan más de 153 000 especies en aproximadamente 33 países (Center for Biodiversity Genomics [CBG], 2019).

Estudios realizados desde 1982, sobre la sistemática y ecología evolutiva de los artrópodos terrestres en las Islas (Baert, 1995), reportan que los grupos más importantes de artrópodos son los insectos con 1592 especies, ácaros con 192 especies, arácnida con 152 especies, isópoda con 17 especies, pseudoescorpiones con 16 especies, chilópoda con 13 especies y diplópoda con 9 especies. De todas estas, se ha determinado que 545 especies de insectos son invasivas o introducidas a las Islas (Fundación Charles Darwin (FCD) y WWF, Ecuador, 2018), observándose un incremento de 186 especies de insectos en relación a un inventario realizado en 1998 (Peck, S., Heraty, J., Landry, B., 1998), 52 especies de insectos, son altamente invasivas y herbívoros (Causton, C., Peck, S., Sinclair, B., Roque-Albelo, L., Hodgson, C., Landry, B. 2006). Estas introducciones probablemente acompañaron a las oleadas de colonos que se mudaron a Galápagos, algunos de ellos motivados por la agricultura, especialmente a las islas Isabela, San Cristóbal y Santa Cruz (Hickman, 1985). En el caso de comunidades de arañas, se ha reportado un impacto negativo, con la desaparición de siete especies endémicas y dos nativas que han sido reemplazadas, entre otras por especies introducidas (Baert, 1995), las cuales tienen menor valor en la conservación de la naturaleza y el mantenimiento de la biodiversidad en la provincia de Galápagos.

El proyecto se enmarca dentro del proyecto Bioagricultura para Galápagos que involucra los esquemas de producción agroecológica, promoción de mercados locales e investigación participativa, liderada por el INIAP desde el 2015, a través de la Granja El Socavón ubicada en San Cristóbal y con la participación de la Agencia de Regulación y Control de la bioseguridad y Cuarentena para Galápagos (ABG), Parque Nacional Galápagos (PNG) y el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) en la provincia de Galápagos. Además, el proyecto cuenta con la cooperación técnica y financiamiento para efectuar el análisis molecular, por parte del CBG; también se enmarca dentro del GMP.

Objetivos:

General

Obtener información sobre la diversidad y abundancia de artrópodos en cuatro islas (Santa Cruz, Isabela, San Cristóbal y Floreana) de la provincia de Galápagos, que permita verificar los cambios en la biodiversidad de artrópodos y desarrollar programas de vigilancia.

Objetivo Específico

Determinar la diversidad y abundancia temporal y espacial de artrópodos en las islas Santa Cruz, San Cristóbal, Floreana e Isabela, mediante trampa Malaise y código de barras de ADN.

Metodología:

Cumplimiento de normas

INIAP

El protocolo: Caracterización de la diversidad y abundancia de artrópodos en la provincia de Galápagos, aprobado por el Comité Técnico de la Estación Experimental Litoral Sur el 06 de junio, 2020, de acuerdo a los documentos: Memorando Nro. INIAP-EESC_DENAREF-2020-0094-MEM, Memorando Nro. INIAP-EESC_DIR-2020-0732-MEM y Acta de aprobación.

Ministerio del Ambiente y Agua (MAAE)

Previo al inicio de actividades del proyecto, y a fin de cumplir con las normas vigentes, se realizaron las gestiones en el Ministerio del Ambiente y Agua (MAAE), para la suscripción del Contrato Marco de Acceso a los Recursos Genéticos del proyecto de investigación científica denominado:

“Caracterización de la diversidad y abundancia de artrópodos en la provincia de Galápagos.”

celebrado entre el Ministerio del Ambiente y Agua, a través de la subsecretaría de Patrimonio

Natural; y, el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP. MAAE-DBI-CM-2021-0155,

como consta en el Memorando Nro. INIAP-DGCC-2021-0098-MEM del 03 de mayo, 2021.

Trampas Malaise

Como parte de los compromisos acordados en el Global Program Malaise, la administración del programa remitió a la ciudad de Quito en diciembre, 2020, cuatro kits de Trampas Malaise con todos los materiales para la implementación de las trampas en los sitios seleccionados en las cuatro islas de la provincia de Galápagos.

Ubicación

La investigación se desarrolla, en sitios o lugares seleccionados de acuerdo a la vegetación o hábitat natural que limita con las fincas de agricultores en las islas, Isabela, San Cristóbal, Floreana y Santa Cruz, como se describe en la Tabla 2.

Tabla 2. Características de los sitios donde se ubican las trampas Malaise. Galápagos, 2021.

No.	Apellidos y nombres del Productor	Cantón	Parroquia	Sector de ubicación del predio	Latitud (UTM)	Longitud (UTM)
1	Lapo Masache Ignacio	Isabela	Tomas de Berlanga	Barrio Loja	722863	9906505
2	Gaona Abad Kelvin Amilcar	Santa Cruz	Bellavista	El Occidente	794110	99212352
3	Guamán Coello Gladys	San Cristóbal	El Progreso	El Chino	226297	9898682
4	Cruz Claudio	San Cristóbal	Sta. Maria	Isla Floriana/ Sector: Las Chacras Finca: "La Primavera"	784950	9855365

Fuente: MAG/ABG-Galápagos, 2019-2021

Las trampas Malaise, se colocaron en el mes de julio, 2021 en sitios con una mínima perturbación, en bordes entre la vegetación natural y hábitats agrícolas, en áreas con poca maleza y en lo posible

en ángulo recto con respecto a una línea de vuelo de insectos y seguros para evitar la pérdida de las trampas.

Colecta de especímenes

La colecta se realiza cada siete días, con el cambio de frascos (250 ml) y alcohol potable al 95%, de acuerdo a los protocolos descritos por el Centre for Biodiversity Genomics (CBG/GMP); se recogen los frascos debidamente etiquetados (número de muestra, fecha de colecta, lugar, georeferencia) para conservarlos en un congelador a 20 ± 2 °C; este procedimiento realizan los técnicos de la ABG en cada isla.

Los muestreos se realizan en forma continua, durante 52 semanas, desde julio 2021 hasta junio 2022; posteriormente, se realizará el envío al CBG para la identificación de los especímenes con técnicas moleculares.

Resultados:

En el periodo de julio a diciembre, 2021, se han realizado las colectas de 27 muestras o frascos por isla, para un total de 108 muestras, conservadas a 20 ± 2 °C.

Conclusión:

Se dispone de toda la documentación necesaria, aprobadas por el Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica (MAATE) para la investigación y envío de muestras a los laboratorios del CBG para la identificación con técnicas moleculares.

Recomendación:

Se continuará con la colecta de 25 muestras o frascos en cada isla hasta junio, 2022.

Referencias:

Baert, L. (1995). Notas sobre el estado de los artrópodos terrestres en Galápagos. Noticias de

Galapagos v.54 and 55. Fundación Charles Darwin, Santa Cruz, Galápagos.

Causton, C., Peck, S., Sinclair, B., Roque-Albelo, L., Hodgson, C., Landry, B. (2006). Alien Insects:

Threats and Implications for Conservation of Galápagos Islands. *Annals of the Entomological Society of America*, 99 (1):121–143,

[doi.org/10.1603/0013-8746\(2006\)099\[0121:AITAIF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2006)099[0121:AITAIF]2.0.CO;2)

Center for Biodiversity Genomics (CBG). (2019). Global Malaise Trap Program. Recuperado de

<https://biodiversitygenomics.net/projects/gmp/>.

Fundación Charles Darwin (FCD) y WWF-Ecuador. (2018). Atlas de Galápagos, Ecuador: Especies

Nativas e Invasoras. Quito, FCD y WWF Ecuador.

Hickman, J. (1985). The enchanted isles; the Galapagos discovered. Anthony Nelson Ltd., P.O. Box 9,

Oswestry, Shropshire, SY110Y. England.

Peck, S. B., Heraty, J., Landry, B. (1998). Introduced Insect Fauna of an Oceanic Archipelago: The

Galápagos Islands, Ecuador. *American Entomologist*, 44(4): 218–237.

doi.org/10.1093/ae/44.4.218.

Piñero, F. S., Tinaut, A., Aguirre-Segura, A, Miñano, J., Lencina, J.L., Ortiz-Sanchez, F.J., Perez-Lopez F.

J. (2011). Terrestrial arthropod fauna of arid areas of SE Spain: Diversity, biogeography, and conservation. *Journal of Arid Environments* 75(12):1321-1332. DOI:

[10.1016/j.jaridenv.2011.06.014](https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2011.06.014).

Stork, N. (2018). How Many Species of Insects and Other Terrestrial Arthropods Are There on Earth?.

Annu. Rev. Entomol. 63:31–45.

Actividad 14.

Identificación molecular de nematodos entomopatógenos y sus bacterias simbiotas para control de plagas de interés económico

Responsable: Pablo Llumiquinga, P.

Colaboradores: Abasolo, H.

Antecedentes

La producción agrícola ecuatoriana es afectada por varios factores limitantes de origen biótico como abiótico. En este contexto, los insectos constituyen uno de los principales agentes que producen pérdidas considerables en las diversas etapas del cultivo (Caicedo & Caicedo, 2021).

Para combatir a estas plagas de importancia económica, se han estudiado diferentes mecanismos de control que permiten reducir las pérdidas a los agricultores, tanto en producción como en postcosecha (Morales, 2015). Una de estas estrategias es el control biológico, que ha tomado fuerza a partir de una producción más limpia de alimentos. Entre estas estrategias se encuentra el uso de nematodos entomopatógenos (NEPs) que controlan a diferentes plagas de interés económico (Merino & France, 2009).

Los géneros más conocidos dentro de este grupo de nematodos son *Steinernema* y *Heterorhabditis*, que se encuentran en simbiosis con las bacterias *Xenorhabdus* y *Photorhabdus* (Kaya & Gaugler, 1993).

El mecanismo de infección inicia con el ingreso del nematodo a la hemolinfa del insecto, donde se liberan a las bacterias simbiotas que degradan las células sanguíneas en nutrientes útiles para el nematodo. Dentro del cuerpo del insecto, se reproduce el nematodo en tres hasta cuatro generaciones hasta que los infectivos juveniles salen en busca de otro hospedero, y de esta manera se repite el ciclo de infección (Alvarado, 2012).

En el país se ha realizado estudios de patogenicidad de 11 aislamientos de NEPs de diferentes localidades del país, en el que, se realizó una aproximación morfológica de estos nematodos

mediante claves taxonómicas, del que resultó cuatro aislamientos como *Heterorhabditis* y el resto nematodos del género *Steinernema* (Argotti, et al. 2010). Posteriormente, con técnicas morfométricas y moleculares como PCR y secuenciación, se identificó a nivel de especie que cuatro de estos aislamientos pertenecían a *S. feltiae* (Pallo, 2017).

Un punto crítico para la investigación con estos organismos es la identificación de especie, debido a que hay grupos de nematodos que no son infectivos para ciertos insectos como *G. mellonella* y por ende es limitada la captura y aprovechamiento de estos agentes biocontroladores (Argotti et al., 2010).

Por la importancia que demanda la identificación del nematodo, en este estudio se propone la identificación de nuevos aislamientos de nematodos provenientes de suelos de zonas productivas de papa, chocho, maíz, haba y naranjilla, y que servirá como línea base para futuras investigaciones para análisis de patogenicidad en plagas de importancia económica de estos y varios cultivos.

Objetivos

General

- Identificar morfológica y molecularmente los nematodos entomopatógenos y sus bacterias simbiotas de suelos de varios cultivos de la Sierra ecuatoriana.

Específicos

- Aislar nematodos entomopatógenos a partir de muestras de diferentes suelos cultivados
- Identificar molecularmente los aislamientos de nematodos entomopatógenos encontrados y sus bacterias simbiotas

Metodología

Aislamiento de nematodos entomopatógenos

Se realizó la captura de los nematodos entomopatógenos según la metodología de Castillo et al., (2011). Se tomaron muestras de 67 suelos de diferentes localidades de la Sierra centro norte del país, en donde se encuentra la presencia de cutzo. Se colocó el suelo en tarrinas plásticas con seis larvas de *Galleria mellonella*, y se humedeció diariamente durante siete días. Luego de este tiempo,

se aisló las larvas de insecto que murieron debido a los nematodos y se las colocó en trampas White. Para esto, se colocaron seis larvas de último instar de *G. mellonella* sobre discos de papel filtro, las cuales se colocaron sobre una lámina de agua destilada. Se esperó aproximadamente dos semanas, hasta que los nematodos infectivos juveniles salgan de los cadáveres de los insectos infectados. Una vez que los nematodos se liberaran en el agua, se sacó el soporte y se conservó los aislamientos hasta realizar las identificaciones moleculares.

Extracción y amplificación de ADN

Se realizó la extracción de ADN a partir de un infectivo juvenil según la metodología de Hominick et al., (1997). Se cortó en tres secciones al nematodo y se transfirió el contenido a un microtubo de 0.2 mL con 20 μ L de Buffer de lisis. El tubo se congeló a -80°C por 10 minutos y luego se incubó a 65°C por una hora, seguido por 95°C por 10 minutos.

Se amplifico la región D2D3 del ADNr del nematodo mediante la metodología de De Ley et al. 1999.

La mezcla de reacción se puede observar en la tabla 1.

Tabla 1. Componentes de reacción para la amplificación de la región D2D3 de ADNr 28S.

Componentes	Concentración inicial	1X(ul)
Buffer	10X	5
MgCl ₂	25mM	4
dNTPs	5 mM	1
D2A (5'-ACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG-3')	25 mM	1.2
D3B (5'-TCGGAAGGAACCAGCTACTA-3')	25 mM	1.2
Taq Polimerasa	1.5 U	0.3
DNA	2.5 μ L	2.5

Fuente: De Ley et al. 1999

Las condiciones de amplificación se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Condiciones de PCR para la amplificación de la región D2D3 de ADNr 28S

Ciclo PCR	Temperatura	Tiempo
1X	94°C	3 minutos
	94°C	1 minuto
	55°C	30 segundos
30X	72°C	2 minutos
1X	72°C	7 minutos

Fuente: De Ley et al. 1999

A estos mismos aislamientos se realizaron la identificación molecular mediante amplificación de la región D2D3 y se enviaron a servicio de secuenciación para conocer la especie de nematodo, como se muestra en la figura 1.

Aislamiento de bacterias simbiotes

En una placa Petri se colocarán papel filtro y cinco larvas de *G. mellonella*, a estas se infectó con 1 ml de los aislamientos de nematodos obtenidos. Después de 48h se tomaron los cadáveres de las larvas y se desinfectó en hipoclorito de sodio al 1%. Luego se enjuagó tres veces consecutivas con agua destilada y se diseccionó los cadáveres de insecto, sin cortar el tracto digestivo de estos y la primera gota de hemolinfa se colocó en el medio de cultivo NBTA (Nguyen & Smart, 1996).

Secuenciación

Las amplificaciones de ADN se enviarán a servicio de secuenciación para determinar las especies de nematodos entomopatógenos y sus respectivas bacterias simbiotes.

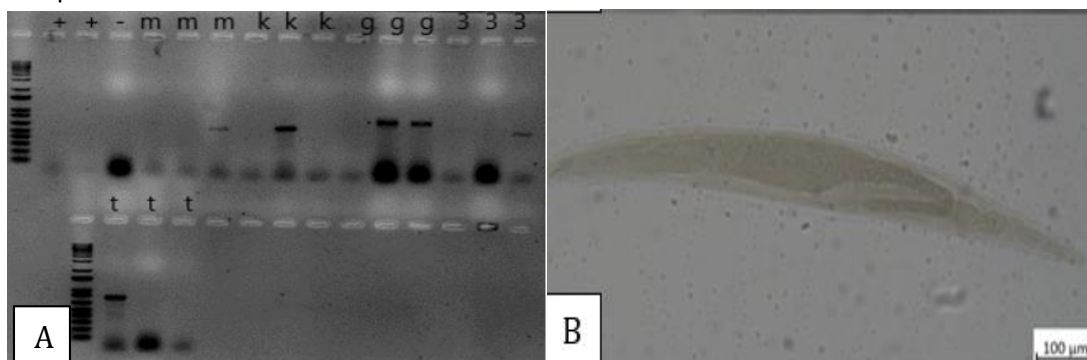
Resultados

Se observó la presencia de nematodos entomopatógenos en cadáveres de larvas de *G. mellonella* en 27 muestras de suelo, de las cuales solo en cuatro muestras se observó una multiplicación exitosa de nematodos (>1000 IJ). Esto se corrobora por lo mencionado por Argotti et al., (2010), en el que se mantiene esta densidad poblacional de nematodos para poder considerar exitosa a un aislamiento patogénico.

Mediante la aproximación morfológica se determinó que estos aislamientos pertenecen al género *Steinernema*. Se observó infectivos juveniles con presencia de una cola puntiaguda, cuerpo fino. Se identificó dos generaciones anfimíticas dentro del insecto y los adultos se diferenciaban debido a que presentaban un cuerpo grueso. Los machos presentaron cola terminada en un mucrón sin presencia de bursa como se observa en la figura 1. Las hembras fueron de tamaño más grandes que los machos y los juveniles, además presentaron una vulva con epiptigma y cola puntiaguda. Estos datos son comparables con observaciones obtenidas en otras investigaciones respecto a la morfología del nematodo (Nikdel & Niknam, 2015).

En la identificación molecular, se obtuvo bandas de tamaño para la amplificación de la región D2D3 de ~600 pb. Esto se corrobora con lo obtenido por Pallo (2017), en el que determinó por secuenciación la presencia de *S. feltiae* en muestras de suelo destinadas al cultivo de papa. Por otro lado, el aislamiento G2A que obtuvo un tamaño de banda de ~800 pb.

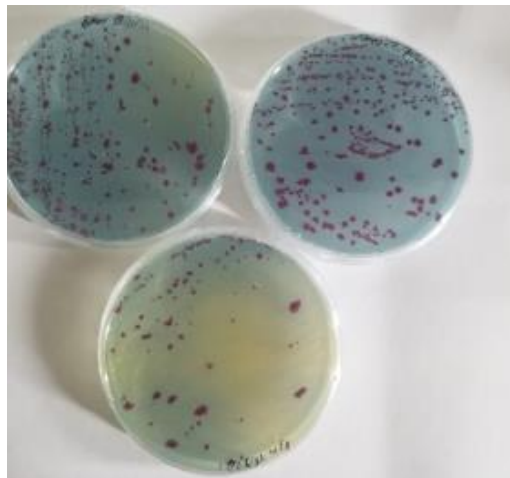
Fig. 1. Identificación morfológica y molecular de nematodos entomopatógenos asociados en zonas con presencia de cutzo.



Nota: A) Amplificación de la zona D2D3 del ADNr del nematodo B) Identificación morfométrica de macho de nematodo entomopatógeno.

Además, se realizó en el aislamiento de las bacterias simbiotas en medio diferencial NBTA (Fig. 2A), se obtuvieron colonias bacterianas de color rojizas con presencia de concavidades, por lo que en primera instancia se determina la presencia de géneros de bacterias simbióticas de la familia Steinernematidae.

Fig 2. Cultivo en medio NBTA de bacterias asociadas a nematodos entomopatógenos



Conclusiones

- No existe una multiplicación abundante de los nematodos aislados en las muestras de suelo larvas de *G. mellonella*.
- Se identificó que los nematodos aislados pertenecen a la familia Steinernematidae en aproximación morfológica.
- Se observaron amplificaciones de ADN de ~600 pb en tres de los cuatro aislamientos procesados, se espera los resultados de secuenciación para determinar especie.
- Se observó bacterias simbiotas en cada uno de los aislamientos obtenidos.

Bibliografía

- Alvarado, A. (2012). *Hábitos parasitarios y comportamiento de un aislamiento nativo del nemátodo entomopatógeno steinernema sp. en larvas de Galleria mellonella L.* Universidad de Chile.
- Argotti, E., Gallegos, P., Alcázar, J., & Kaya, H. (2010). Patogenicidad de nematodos entomopatógenos del genero Steinernema y Heterorhabditis sobre larvas de *Tecia solanivora* en Ecuador. In *Boletín Técnico 9, Serie Zoológica 6* (162–172).
- Caicedo, W., & Caicedo, L. (2021). Comportamiento productivo de cerdos comerciales en crecimiento alimentados con ensilado de papa (*Solanum tuberosum* L.) de rechazo. *Development*, 33, 4.
- Castillo, C., Gallegos, P., Asaquibay, C., & Oña, M. (2011). Guía de prospección y multiplicación de nematodos entomopatógenos para el control biológico de plagas en Ecuador. INIAP, EESC, Departamento Nacional de Protección Vegetal. Quito. Manual Técnico No. 88. 15 p.
- De Ley, P., Nadler, S., Thomas, W. K., Frisse, L., Felix, M.-A., & Sternberg, P. (1999). Molecular and morphological characterisation of two reproductively isolated species with mirror-image anatomy (Nematoda: Cephalobidae). *Nematology*, 1(6), 591–612.
<https://doi.org/10.1163/156854199508559>
- Hominick, W. M., Briscoe, B. R., del Pino, F. G., Heng, J., Hunt, D. J., Kozodoy, E., Mracek, Z., Nguyen, K. B., Reid, a. P., Spiridonov, S., Stock, P., Sturhan, D., Waturu, C., & Yoshida, M. (1997). Biosystematics of entomopathogenic nematodes: current status, protocols and definitions. *Journal of Helminthology*, 71(04), 271. <https://doi.org/10.1017/S0022149X00016096>
- Kaya, H. K., & Gaugler, R. (1993). Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology* 38, 181–206.
- Merino, L., & France, A. (2009). Nemátodos entomopatógenos: Control biológico de insectos plaga de importancia económica. Tierra Adentro.

Morales, E. R. B. (2015). Manejo de cultivos andinos del Ecuador. Comisión Editorial de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, 145.

Pallo, B. (2017). *Identificación de Especies de Nematodos Entomopatógenos mediante la Técnica PCR y Microscopía Electrónica de Barrido, en Aislamientos Pertenecientes a la Colección de la Estación Experimental Santa Catalina-INIAP*. Universidad de las Fuerzas Armadas.

Actividad 15.

Evaluación de la interacción de extractos vegetales y hongos nematófagos para el control de *Meloidogyne incognita* bajo condiciones controladas de laboratorio

Responsable: Pablo Llumiquinga

Colaboradores: Alisson Abarca, Ivonne Herrera, Cristina Tello

El presente estudio fue aprobado por comité técnico de la Estación Experimental Santa Catalina- INIAP (EESC-INIAP) mediante Memorando Nro. INIAP-EESC_DIR-2020-0687-MEM del 11 de junio de 2020.

Antecedentes

Los nematodos fitoparásitos del género *Meloidogyne* son considerados de los más evolucionados, nocivos y de mayor importancia económica en el mundo (Perry *et al.*, 2009). puesto que parasita a más de 2000 especies vegetales en las cuales provoca daños desde sus raíces hasta el follaje con distintos síntomas como agallas, nudos, lesiones, pudriciones de la raíz, enanismo, clorosis, marchitamiento y baja productividad (Abelleira, 2015; Buhner, 2016; Insunza, Aballay & Macaya, 2001).

Varias investigaciones demuestran la efectividad de los extractos vegetales por sus propiedades biocontroladoras de nematodos fitopatógenos que han causado gran interés en la industria agrícola (Dorman, & Deans 2000). El extracto de Chocho (*Lupinus mutabilis*) está constituido por varios

alcaloides, los cuales pueden llegar a ser tóxicos para insectos y fitoparásitos (Dubios *et al.*, 2019), así mismo, el extracto de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) está constituido en un 90% de eugenol, lo que le atribuye un efecto nematológico, por ello, se ha demostrado que es altamente activo frente a el estadio J2 y huevos de *M. incognita*, por otra parte, la Canela (*Cinnamomum verum*) contiene 13% de eugenol y cetonas monoterpenoides que lo vuelve tóxico para *M. incognita* (D'Addabbo & Avato 2021).

Además, existen microorganismos como los hongos que actúan como antagonistas. Estos poseen una ventaja para el control de nematodos debido a que se encuentran presentes en la rizosfera y aumentan la respuesta de la defensa del huésped frente a los patógenos por liberar moléculas bioactivas como enzimas y metabolitos secundarios que favorecen la colonización (Poveda, Abril-Urias, & Escobar, 2020). Se conoce que los géneros más importantes para el control biológico de hongos son: *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Hirsutella*, *Nematophthora*, *Arthrobotrys*, *Drechmeria*, *Fusarium* y *Monacrosporium* (Zaki Siddiqui & Irshad Mahmood 1996).

La presente investigación tiene como objetivo evaluar el efecto de las interacciones entre los extractos botánicos de *Cinnamomum verum* J., *Syzygium aromaticum* (L.), *Chenopodium quinoa*, *Azadirachta indica* A.Juss., *Lupinus mutabilis* Sweet, y hongos nematofagos como *Paecilomyces* sp., *Arthrobotrys* sp., *Gliocladium* sp. y *Beauveria* sp. para el biocontrol de diferentes estadios de *Meloidogyne incognita* en condiciones de laboratorio.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Evaluar el efecto de la interacción de extractos botánicos y hongos nematofagos para el control de *Meloidogyne incognita* en condiciones de laboratorio.

Objetivos Específicos

Identificar molecularmente las cepas de hongos nematofagos para el control de *M. incognita*

Evaluar la respuesta de interacción entre extractos botánicos y hongos nematófagos en condiciones *in vitro*.

Establecer las interacciones hongo – extracto botánico que tienen efecto nematocida y/o nematostático para *M. incognita* bajo condiciones de laboratorio.

Metodología

Multiplicación de hongos nematófagos

Se utilizaron los aislamientos de *Paecilomyces* sp, *Beauveria* sp, *Arthrobotrys* sp. y *Gliocladium* spp., de una colección de cultivos puros conservados en agar patata dextrosa (PDA) a 4°C del Departamento de Protección Vegetal del INIAP-EESC. Para su multiplicación, se colocó 39 g de medio PDA en un frasco de vidrio y se añadió un litro de agua destilada, se agitó y se esterilizó en la autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se dispensó el medio PDA en cajas Petri en la Cámara de flujo laminar y se colocó un disco de micelio de cada hongo con una pipeta pasteur de vidrio en el centro de la placa Petri y se incubaron las cajas Petri a 23 °C por 15 días.

Identificación de especies de hongos nematófagos nativos

Extracción de ADN

El procedimiento se realizó según lo descrito por Plaza *et al.* (2004), en el departamento de Biotecnología del INIAP-EESC. Por lo cual, se recolectaron entre 200 a 500 mg de micelio en tubos eppendorf con etiqueta en la cámara de flujo laminar. Luego, se añadieron 500 µl del buffer de extracción de la tabla 2 con perlas de vidrio, se colocaron en vortex genie 2. Después se centrifugaron los tubos y se recogió el sobrenadante en nuevos tubos. Se añadió fenol: cloroformo: alcohol isoamílico (25;24;1), luego se agitaron los tubos y se centrifugó los tubos a 13000 rpm por 10 min.

Posteriormente, el sobrenadante se transfirió a nuevos tubos y se agregó cloroformo: alcohol isoamílico (24;1), se centrifugó y se recogió el sobrenadante en nuevo tubo. Se añadió 2,5 volúmenes de isopropanol frío y se almacenó a -20 °C por 1 hora. Después, se centrifugó el contenido y se descartó el sobrenadante. Luego se lavaron los pellet de ADN con 1 ml de etanol al 70% dos veces, se centrifugó el contenido a 13000 rpm por 10 min y se descartó el sobrenadante. Finalmente, se eliminó los restos de etanol en una microestufa por 30 min a 37° C, se añadió 100 µl de TE más 2µl de RNasa y se incubó en termobloque por 30 minutos.

Tabla 2. Composición del tampón de extracción para 100 ml:

Soluciones Stock/reactivos	Concentración final
Tris HCl pH 8 (1M)	200mM
NaCl (5M)	250mM
EDTA pH 8 (0.5M)	25mM
SDS	0.5%
Agua destilada estéril	

Nota: Según (Plaza et al., 2004).

Cuantificación del ADN

El ADN extraído se analizó por espectrofotometría con el equipo cuantificador de ADN Epoch por medio del programa Gen 5.

Amplificación de la región *Internal Transcribed Spacer* (ITS)

Los ADN obtenidos se amplificaron mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional de la región ITS del hongo. La mezcla de la reacción se puede observar en la Tabla 3.

Tabla 3 Dilución de los compuestos

Compuestos de la PCR	Concentración Final
Agua UP	-
Buffer PCR	0,5 x
MgCl ₂	1,5 mM
dNTPs	0,1 mM
ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')	0,4 uM
ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')	0,4 uM
Taq	0,1 U/uL
ADN (20 ng/uL)	0.8 ng/uL

Nota: Total de reacción es 25 uL, según (Morillo y Miño, 2011)

Las condiciones de reacción para la amplificación de esta región de ADN se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Programa térmico para la validación de ADN

Proceso	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización inicial	95°C	5 min	1
Desnaturalización	94°C	1 min	
Hibridación	55°C	2 min	35
Extensión	72°C	1 min	
Extensión final	70°C	10 min	1
Mantenimiento	4°C	5 min	1

Nota: Según (Morillo y Miño, 2011)

Las amplificaciones de ADN se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% a un voltaje de 100 W por 30 minutos. Finalmente se visualizó la corrida del gel de agarosa en un fotodocumentador.

Análisis de secuencias

El producto PCR se enviará para el análisis de secuencias, luego se realizará la limpieza del cromatograma, se ensamblará y se identificarán las secuencias en BLAST del sitio web NCBI.

Obtención de extractos botánicos

La obtención se realizó en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP-EESC. Se obtuvo extractos vegetales a partir de flores de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), corteza de la canela (*Cinnamomum verum*), semilla de chocho (*Lupinus mutabilis*), semillas molidas de quinua (*Chenopodium quinoa*), semillas de Neem (*Azadirachta indica*). Se colocó 500 g del material vegetal en solución etanol: agua destilada (1:1) y se dejó secar durante 48 horas a temperatura ambiente. Se extrajo el etanol mediante rotavapor y se almacenó el extracto hasta su uso.

Los extractos de chocho y quinua mediante extracción acuosa del material vegetal. Se hizo la última extracción según el método de INIFAP (2004), por lo que se colocó 500 g de material vegetal en 2000 mL de agua y se agitó la mezcla durante 24 horas. Después, se filtró y lo obtenido fue almacenado a 4°C. Para la prueba de alcaloides, se colocaron 1000 uL de la muestra de extracto en cada pocillo sobre una placa y se añadió 1000 uL del reactivo respectivo Mayer.

Para la determinación de compuestos fenólicos en los extractos, se colocó 1 ml de extracto, aforado a 25 ml con metanol al 70%. Se añadió 400 ul de la muestra en un tubo de ensayo. En el caso del blanco fue agua destilada. Luego, se agregó 8 ml de agua destilada y 500 uL del reactivo de Folin Ciocalteu 2N, se mezcló. Después, se añadió 1500 uL de solución de carbonato de sodio saturado y se mezcló. Se colocaron los tubos en baño María a 40 °C por 30 minutos. Finalmente, se leyó a 765

nm en el espectrofotómetro y se calculó la concentración de los compuestos fenólicos totales en base a la curva estándar.

Evaluación de la compatibilidad entre extractos botánicos y hongos nematófagos

El proceso se realizó según la metodología descrita por Racines-Oliva *et al.* (2019), para ello se colocaron diluciones del 1%, 5% y 10% de cada extracto en frascos de vidrio, con el medio de cultivo PDA autoclavado, en la Cámara de flujo laminar se dispensaron las placas Petri y se colocaron discos de cada micelio en el centro. Finalmente, se incubaron a 21°C por un periodo de 7 a 14 días.

Además, se realizaron controles sin extracto.

Filtrados de hongos nematófagos

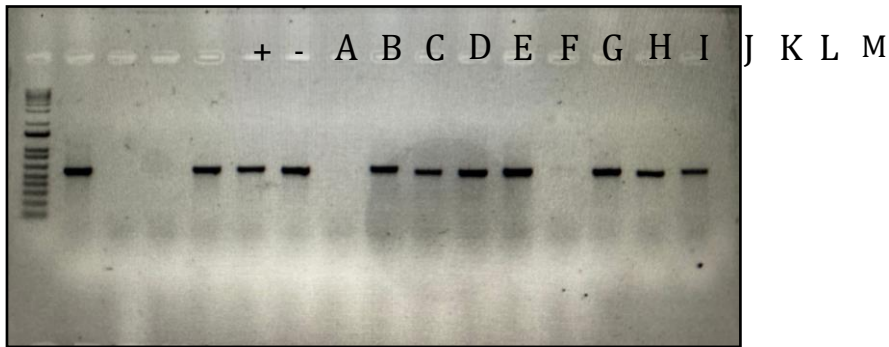
Se procedió según la metodología descrita por Singh *et al.*, (2013), por lo cual, se lavaron distintas cajas Petri con el micelio fúngico y agua destilada esterilizada (ADE), se colocó en un recipiente y se agitó por 5 min. Luego, se filtró con gasas estériles, se midió lo obtenido en una probeta y se aforó hasta 75 mL con ADE. Después, se hicieron diluciones (-1 y -2) con 9 mL de ADE y 1 mL de la muestra en tubos de ensayo, se hizo vortex por 3 minutos y se contabilizó el número de conidias mediante un hematocitómetro por el procedimiento de Racines-Oliva *et al.* (2019).

Resultados

Identificación molecular de hongos nematófagos

Se obtuvieron bandas con tamaños de aproximadamente ~600 pb para todos los hongos extraídos, como se muestra en la figura 3. Esto se corrobora con lo encontrado en otras investigaciones en las que se encontraron aislamientos de hongos como especies de *Paecilomyces*, *Gliocladium*, *Arthrobotrys* y *Beauveria* con tamaños de banda similares obtenidos en el presente estudio (Nguyen *et al.*, 2016; Paavanen-Huhtala & Yli-Mattila, 2000). Cabe mencionar que estas amplificaciones se enviarán a secuenciación para determinar las especies de hongo a la que pertenecen

Fig. 3. Amplificaciones de región ITS de hongos entomopatógenos



Nota: A. *Paecilomyces 1 sp.*, B. *Paecilomyces 2 sp.*, C. *Gliocladium sp.*, D. *Arthrobotrys sp.*, E. *Arthrobotrys sp.*, F. *Gliocladium sp.*, G. *Paecilomyces sp.*, H. *Beauveria sp.*, I. CB5. J. CB6. K. CB4. L. *Paecilomyces sp.*, M. CB10. +. Control positivo (*Fusarium oxysporum*). -. Control Negativo

Interacción hongo nematófago-extracto vegetal

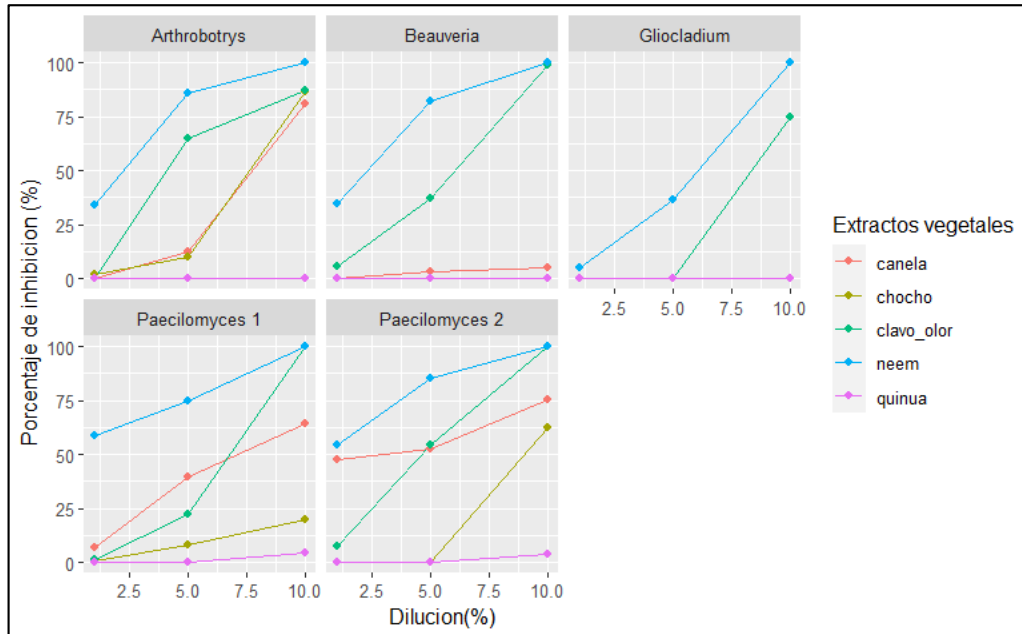
Se observó diferentes respuestas debidas al porcentaje de inhibición del hongo y los cinco extractos vegetales evaluadas en este ensayo como se muestra en la figura 4.

Se observó que el extracto de quinua no produjo inhibición para los todos los hongos, a excepción de los dos aislamientos de *Paecilomyces sp.*, evaluados con una dilución al 10%.

Por otro lado, se determinó que con el extracto de neem se observaron los mayores porcentajes de inhibición para todos los hongos. Con diluciones al 10% se inhibió hasta en un 100% en todos los casos.

Las mejores interacciones se observaron con el hongo *Gliocladium sp.* ya que los extractos de quinua, clavo de olor y chocho, produjeron una inhibición del 0% en todas las diluciones, por lo que se puede utilizar estas interacciones para un programa de control biológico.

Fig. 4. Gráfico de interacciones entre los nematodos nematófagos y extractos vegetales a diferentes diluciones.



Conclusiones

- El extracto de quinua puede funcionar adecuadamente con los hongos utilizados en la presente investigación, ya que el porcentaje de inhibición es nulo a bajo.
- *Gliocladium* sp, obtuvo un porcentaje de inhibición nulo para los extractos de canela, chocho y quinua, por lo que puede considerarse un buen interactuante con los extractos para nematodos.
- El extracto de neem redujo considerablemente el crecimiento de todos los hongos en todas las diluciones.

Bibliografía

Abelleira, A. A. (2015). Nematodos agrícolas, 1, 02.

<https://doi.org/http://www.efadip.org/comun/publicaciones/FTecnicas/Download/16ok%20nematodos.pdf>

Buhrer EM. Adiciones a la lista de plantas atacadas por el nematodo del nudo de la raíz

(*Heterodera marioni*) *Plant Disease Reporter*. 2016; 22:216–234.

Insunza V, Aballay E, Macaya J. Actividad nematocida de extractos acuosos de plantas sobre *índice*

Xiphinema. *Nematologia Mediterranea*. 2001b; 29:35–40.

D'Addabbo, T., & Avato, P. (2021). Chemical Composition and Nematicidal Properties of Sixteen Essential Oils-A Review. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(7), 1368.

<https://doi.org/10.3390/plants10071368>

Dorman, H. J., & Deans, S. G. (2000). Agentes antimicrobianos de las plantas: actividad

antibacteriana de los aceites volátiles vegetales. *Revista de microbiología aplicada*, 88(2), 308–316. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x>

Dubois, O., Allanic, C., Charvet, CL, Guégnard, F., Février, H., Théry-Koné, I., Cortet, J., Koch, C.,

Bouvier, F., Fassier, T., Marcon, D., Magnin-Robert, JB, Peineau, N., Courtot, E., Huau, C.,

Meynadier, A., Enguehard-Gueiffier, C., Neveu, C., Boudesocque-Delaye, L. Y Sallé, G. (2019).

Las semillas de altramuza (*Lupinus* spp.) Ejercen una actividad antihelmíntica asociada con su contenido de alcaloides. *Informes científicos*, 9 (1), 9070. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45654-6>

Nguyen, T. T. T., Paul, N. C., & Lee, H. B. (2016). Characterization of *Paecilomyces variotii* and

Talaromyces amestolkiae in Korea based on the morphological characteristics and multigene phylogenetic analyses. *Mycobiology*, 44(4), 248–259.

<https://doi.org/10.5941/MYCO.2016.44.4.248>

Paavanen-Huhtala, S., & Yli-Mattila, T. (2000). Development of Strain-specific Primers for a Strain of *Gliocladium catenulatum* Used in Biological Control. *European Journal of Plant Pathology*, 106,

187–198. <https://doi.org/10.1023/A:1008734519852>

Plaza P., Usall J., Teixido N., Viñas I. (2004). Effect of water activity and temperature on competing abilities of common postharvest citrus fungi. *Int. J. Food Microbiol.*, 90: 75-82.

Poveda, J., Abril-Urias, P., & Escobar, C. (2020). Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes by Filamentous Fungi Inducers of Resistance: *Trichoderma*, Mycorrhizal and Endophytic Fungi. *Frontiers in microbiology*, 11, 992. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00992>

M. Racines-Oliva, Evelin Alexandra Tamayo-Gutiérrez, M. Jarrín, F. Báez, C. Tello. 2019. Alternativas de control orgánico in vitro para *Dactylonectria torresensis* en la mora de castilla (*Rubus glaucus*) en Ecuador.

Singh, U.B., Sahu, A., Sahu, N., Singh, R.K., Renu, S., Singh, D.P., Manna, M.C., Sarma, B.K. et al. (2013) *Arthrobotrys oligospora*-mediated biological control of diseases of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) caused by *Meloidogyne incognita* and *Rhizoctonia solani*. *J Appl Microbiol* 114, 196–208. <https://doi.org/10.1111/jam.12009>

Zaki A, S., & Irshad Mahmood. (1996). Role Of Plant Symbionts In Nematode. *Bioresource Technology*, 217-226.

Actividad 16.

Productos y Servicios DNPV

Diagnóstico de problemas fitosanitarios de los cultivos del área de influencia de la EESC Clientes externos e internos

Responsable: María Luisa Insuasti

Colaboradores: Geoconda Cañizares, Pablo Llumiquinga y José Ochoa

Antecedentes:

El diagnóstico fitosanitario es el primer paso y un proceso indispensable para un control racional de enfermedades. Mediante el conocimiento de la etiología permite definir algunos aspectos de identidad y de la epidemiología del patógeno, necesarios para optar por un control eficiente, económico y ecológico de una enfermedad. Empresas y agricultores demandan el servicio de diagnóstico de suelos y sustratos (compost, polen, etc.)

El DNPV, viene realizando diagnóstico de enfermedades de plantas desde el año 1995, como respuesta a la demanda por parte de los agricultores en la identificación de agentes causales de enfermedades principalmente en los cultivos de rosas y flores de verano.

El Departamento tiene estrechos vínculos de trabajo con Programas y Departamentos de la Estación Experimental, así como con Empresas privadas, que son clientes permanentes de los servicios ofertados.

Objetivos:

Objetivo general

- Brindar un servicio de calidad para la identificación de microorganismos fitopatógenos al sector agrícola del país

Objetivos específicos

- Identificar los agentes causales de las enfermedades
- Definir algunos aspectos epidemiológicos

Metodología: Para la ejecución de esta actividad se cuenta con protocolos aprobados por parte de la Dirección de Producción y Servicios desde el año 2017.

- **Análisis micológico de plantas**

Se procedió al análisis y observación de la muestra, para lo cual se realizaron cortes de tejido semiafectados, los cuales se lavaron en agua corriente para luego desinfectarlos con hipoclorito de sodio; posteriormente, se lavaron las muestras con agua destilada estéril.

Se realizaron aislamientos de los patógenos en la cámara de flujo laminar, previamente desinfectada; con la pinza y el bisturí previamente flameados se realizaron cortes del tejido vegetal, los cuales se colocaron en forma equidistante en el medio de cultivo. Las cajas Petri se sellaron con parafilm.

Los medios de cultivo utilizados son: Papa Dextrosa Agar (PDA), Corn Meal Agar (CMA) y Extracto de Malta Agar (EMA) como medios de cultivos generales. Se utilizaron antibióticos para preparar medios selectivos

Para la incubación de los hongos, las cajas Petri se colocan en la incubadora a la temperatura de 25°C durante 4-8 días hasta que aparecieron las colonias, en algunos casos se esperó un periodo de tiempo más largo debido a que hay hongos que forman estructuras complejas como picnidios.

Cuando se observaron las colonias las cajas son expuestas a la luz para facilitar la esporulación del hongo, para posteriormente identificarlos. Para realizar la identificación se tomó una parte de la colonia con una aguja de disección y se la colocaron en el portaobjetos que contenía una gota de agua estéril, y se procedió a cubrir la placa con cinta adhesiva o cubreobjetos. Se observó en el microscopio con el lente de 4X para centrar la muestra y 40X para observar. Para la identificación del patógeno se utilizaron claves taxonómicas, comparando las estructuras morfológicas con las ilustraciones de las claves (Barnett & Hunter, 1997, Ellis, 1976, Nelson et al.1983, Watanabe, 2010). Finalmente, se emitieron los informes con los resultados.

- **Análisis micológico de sustratos (suelo, compost, etc)**

Se tomaron submuestras de las muestras entregadas por los clientes, estas se homogenizaron previamente y luego fueron diluidas con agua destilada estéril. La suspensión se colocó en un agitador magnético, se realizaron diluciones seriadas, se utilizaron las diluciones 10^{-2} 1:100 p/v y 10^{-3}

1:1000 p/v; de las cuales se tomó 0,1 ml y se distribuye en forma uniforme en las cajas Petri conteniendo los medios de cultivo para hongos. Los medios de cultivo utilizados son: Papa Dextrosa Agar (PDA), Corn Meal Agar (CMA), Extracto de Malta Agar (EMA) y Agar Centeno.

Para la incubación de los hongos, las cajas Petri se colocaron en la incubadora a temperatura de 25°C durante 4-8 días hasta que aparezcan las colonias, en algunos casos se espera un periodo de tiempo más largo debido a que hay hongos que forman estructuras complejas como picnidios. Cuando se observaron las colonias las cajas son expuestas a la luz para facilitar la esporulación del hongo, para posteriormente identificarlas.

Para realizar la identificación se tomó una parte de la colonia con una aguja de disección y se colocó en el portaobjetos que contiene una gota de agua estéril, y se procedió a cubrir la placa con cinta adhesiva o cubreobjetos. Se observó en el microscopio con el lente de 4X para centrar la muestra y 40X para observar. Para la identificación del patógeno se utilizaron claves taxonómicas, comparando las estructuras morfológicas con las ilustraciones de claves. (Barnett & Hunter, 1997, Ellis, 1976, Nelson et al.1983, Watanabe, 2010) Finalmente, se emitieron los informes con los resultados.

Para finalizar el proceso se emitieron los informes, en los cual se describen el tipo de hongo, número de UFC (unidades formadoras de colonias) y la importancia de los mismos.

- **Análisis Bacteriológico de planta**

Se lavaron las muestras vegetales por tres veces consecutivas con agua estéril. En la cámara de flujo se tomó una muestra interna de material inicialmente afectado, de aproximadamente 0.25-0.50 cm y se lavó con agua destilada estéril y se agita durante 1 minuto para formar una suspensión de bacterias. De esta suspensión se hacen diferentes diluciones (10^{-3} y 10^{-4}) las que se sembraron formando un estriado con un asa de platino en los diferentes medios de cultivo, se tomó 0.1 ml y se realizó la siembra mediante dispersión con varilla de vidrio. (Shaad *et al.* 2001)

Los medios de cultivo utilizados son: Cristal Violeta Pectato-CVP, B de King-KB, SX y M1A.

(Dependiendo de la bacteria que afecta al cultivo).

Las cajas Petri se incubaron a una temperatura de 24-27°C por tres días. La identificación de bacterias se realizó mediante la observación de la coloración y morfología de las colonias, Además de la reacción obtenida por pruebas bioquímicas. Para finalizar el proceso se emite un informe al usuario en el cual se describen el tipo de bacteria, la frecuencia de aislamiento y la importancia de la misma.

- **Análisis Bacteriológico de sustratos**

Se toma una muestra homogenizada en forma manual de 20g de suelo y se afora con agua destilada estéril a 200 cc. La suspensión se coloca en un agitador magnético, se realizan diluciones seriadas, utilizando las diluciones 10^{-4} 1:10000 p/v y 10^{-5} 1:100000 p/v; de las cuales se toma 0,1 ml y se distribuye en forma uniforme en las cajas petri conteniendo los medios de cultivo para bacterias. (Schaad *et al.* 2001). Los medios de cultivo utilizados son: Cristal Violeta Pectato-CVP, B de King-KB, SX y M1A.

Para la incubación de bacterias, las cajas Petri son colocadas a una temperatura de 24-27°C por tres días. La identificación de bacterias se realiza mediante la observación de la coloración y morfología de las colonias, así como la reacción en los medios de cultivo después del periodo de incubación. Para finalizar el proceso se emite un informe al usuario en el cual se describen el tipo de bacteria, número de UFC (unidades formadoras de colonias) y la importancia de las mismas.

- **Análisis Viroológico**

Metodologías: ELISA (DAS-ELISA, INDIRECT ELISA, TAS-ELISA)

Para la detección de virus se procedieron a realizar ensayos inmunosorbentes ligados a enzimas conocidos como ELISA por sus siglas en inglés “Enzyme-Linked Immunosorbent Assay”, las cuales debido a su alta sensibilidad permiten rastrear el virus incluso en ausencia de síntomas en la planta. Existen diferentes tipos de ELISA, los cuales se realizaron siguiendo el protocolo descrito por la Empresa productora del antisuero. El principio básico de esta técnica se basa en el reconocimiento antígeno-anticuerpo. El extracto del tejido vegetal se colocó en pocillos especiales en varias diluciones, a éste se agrega un set de anticuerpos marcados con una enzima. Finalmente, la reacción

se completó añadiendo un sustrato específico que al unirse a la enzima emite una coloración amarilla, lo cual indica la presencia del patógeno en la muestra.

Resultados:

El número de análisis realizados durante el periodo de Enero a Diciembre del 2021 se detalla en la tabla 1.

Tabla 1. Detalle de los servicios realizados durante el 2021.

ANÁLISIS PARA AGRICULTORES Y EMPRESAS (Clientes Externos)	
Tipo de análisis	N° análisis
Micológicos	131
Bacteriológicos	35
Viroológicos	92
Nematológicos	140
Total	398

ANÁLISIS PARA CLIENTES INTERNOS	
Tipo de análisis	N° análisis
Micológicos	8
Viroológicos	220
Total	228

Referencias.

- Agrios, G. (1998). *Plant Pathology*. Third Ed. Academic Press. San Diego, California (USA). 803 p.
- Barnett, H y Hunter, B. (1973). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Third Ed. Burgess Publishing Company. Minnesota (USA) 241p.
- Brunt A. (1996) *Viruses of Plants*. 1484 p.
- Ellis, M.B. (1976). *Dematiaceous Hyphomycetes*. The Cambrian News Ltd. Aberystwyth. Slougt. (England) 608p.
- Ellis, M.B. (1976). *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey (England). 507p.
- Farr, D.F; Bills, G.F; Chamurris, G.P, and Rossman A.Y. (1989). *Fungi on plants and Plant Products in the United States*. 1252p.
- Nelson, P., Toussoun, T. and Marada, F. 1(983). *Fusarium species, an illustrated Manual for identification*. The Pennsylvania State University Press. University Park and London (USA). 193p.
- Novo, R.; Hernández, A. (2003). Manual práctico de microbiología del suelo. Ciclo de conferencias. Cuba: Universidad Agraria de la Habana. 32p.
- Richmond, J; Mckinney, R. *Bioseguridad en Laboratorios de Microbiología y Biomedicina* 4th Edition. 394p.
- Schaad, J.B. Jones, and W. Chun. (2001). *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, Third edition. 373p.

- **Análisis de calidad de productos biológicos.**

Responsable: Cristina Tello

Antecedentes

En la actualidad, el desarrollo técnico y científico ha permitido la generación de varios bioinsumos de uso agrícola, lo que favorece a la aplicación de estas tecnologías; sin embargo, es de gran importancia que se realice un adecuado control de calidad de los mismos, con el fin de asegurar productos con buenas características de viabilidad, pureza, concentración, actividad biológica y variables físico-químicas, particularidades para asegurar una mayor eficacia en campo.

El Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP, Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina, cuenta con un laboratorio de Control biológico, donde se ha desarrollado el trabajo de estandarización de metodologías apropiadas para un control de calidad de bioformulaciones con base en hongos benéficos; principalmente se han considerado parámetros microbiológicos y físico-químicos, en estudios de evaluación de la estabilidad de la calidad a través del tiempo de almacenamiento.

Objetivos

Determinar la calidad de bioinsumos con base en hongos y bacterias respecto a las principales características microbiológicas y físico-químicas tanto para clientes externos como para internos de INIAP.

Metodología

Entre los parámetros más utilizados en el control de calidad de productos biológicos están: la concentración del número de conidios por gramo o mililitro, la viabilidad del producto expresado en unidades formadoras de colonia por gramo o mililitro, porcentaje de germinación de conidios, el porcentaje de pureza, contenido de humedad, tamaño de partículas, actividad de agua, entre otras; todas estas metodologías se aplican de acuerdo a Báez et al., 2019.

Resultados

En el año 2021, en el Laboratorio de Control Biológico, se realizaron 14 análisis de control de calidad de bioinsumos, correspondientes a nueve análisis para clientes internos y cinco análisis para clientes

externos. Los géneros de microorganismos con las que se trabajó fueron: *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Arthrobotrys*, *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Bacillus* y *Metarhizium*.

Bibliografía

Báez, F., Perdomo, C., Pincay, A., Tello, C., Villamizar, L., Trevor, J., Jaronski, S., Viera, W. (2019).

Manual para el análisis de calidad de formulaciones de hongos benéficos. Manual N° 112.

INIAP – Estación Experimental Santa Catalina. Mejía – Ecuador. 45p.