

Late blight: pathogen variability and disease resistance breeding in Ecuador



Ricardo Delgado

Contents

Chapter 1	Page
General Introduction	9
Chapter 2	
Breeding for potato late blight resistance in Ecuador: INIAP's efforts	21
Chapter 3	
Large sub-clonal variation in <i>Phytophthora infestans</i> populations associated to Ecuadorian potato landraces	35
Chapter 4	63
Exploring the reaction of Ecuadorian potato landraces to late blight	
Chapter 5	75
Farmers perception of Ecuadorian potato landraces	
Chapter 6	91
Construction of a linkage map using DArT markers and searching for QTLs for late blight resistance in a progeny of a cross between two Ecuadorian potato landraces	
Chapter 7	103
Late blight response and yield characteristics of different potato varieties in two environments in Chimborazo province, Ecuador	
Chapter 8	113
General Discussion	
Summary	125
Resumen	127
Acknowledgements	129
About the author	130
List of publications	131
Education Statement	133

Summary

Potato is one of the most important food crops in Ecuador. It is produced mostly by small scale farmers. Late blight is the main disease that affects potatoes in the country, which reduces the yields. From its early beginnings right until now, late blight resistance research and breeding remains the most important Ecuadorian research goal in potato breeding.

In Chapter 2, the potato breeding history in the country and the main results achieved in the last 60 years are reviewed. Although progress has been made over these years durable late blight resistant varieties have not yet been created. Additionally, discussed is the possible reason for a poor adoption of late blight resistant improved varieties. Farmer preferences as well traders and consumers have their role in the adoption of varieties. So there is a need for a formal seed system as well as incentives to lead farmers to adopt new varieties.

The pathogenic and genetic variability of the *Phytophthora infestans* populations associated to potato landraces in three provinces (Carchi, Chimborazo and Loja) of Ecuador was analysed in Chapter 3. Despite the fact that all the isolates were of the A1 mating type, which implies that no sexual recombination occurs, the population analysed was complex and virulent on 4 to 11 R-genes. From the 66 isolates studied, 39 races and 31 multilocus genotypes were identified. All the isolates belonged to the clonal lineage EC-1 which predominates in Ecuador since the 1990s. The analysis performed using a set of 12 SSR markers lead to identify variability within a clonal population. This opens the possibility to monitor the predominant genotypes of the pathogen. The results suggest high mutation rates and little or no selection for specific genotypes.

Then in Chapter 4, a selection of potato landraces was evaluated for its potential as a source for late blight resistance. Two field trials were conducted in San Pedro de Huaca, Carchi province. Additionally, an aggressiveness test was conducted in the laboratory with three *Phytophthora infestans* isolates which were inoculated on detached leaflets of a set of five selected landraces and two commercial varieties. In the field trials, the landraces Santa Rosa Amarilla, Uva, Coneja Blanca and Botella were partially tolerant to late blight and grouped with INIAP Estela, Fripapa and Natividad varieties. In the aggressiveness test, it was observed that the ranking of the genotypes varied depending on the isolate. The resistance detected seems to be of a similar level as that of improved varieties released in the country. Detached leaf assays may give an indication on the reaction of the genotypes, but field evaluation is necessary to confirm the trait. For future breeding, the resistant accessions observed can be used in combination with other quantitative resistant genotypes and/or carriers of major resistance genes to breed for (quantitative) resistant varieties.

A field experiment in Chapter 5 was carried out to assess resistance or susceptibility to late blight of 31 Ecuadorian potato landraces from a new germplasm collection obtained in Carchi, Chimborazo and Loja which were genetically different. The landraces under study showed different responses to late blight in the experimental field. Few landraces demonstrated field resistance similar to the improved variety INIAP-Fripapa. For breeding purposes we can search among the collection of potato landraces for late blight resistance, but few accessions with field resistance may be expected. The introduction of new sources of resistance which

can be cross with local germplasm may be an alternative. Additionally, a survey among 145 farmers growing potato landraces in these three provinces identified late blight as the main disease affecting their potatoes.

The breeding process for obtaining new late blight resistant potatoes takes several years. Potatoes landraces are under study as a source of late blight resistance. One of the species present in Ecuador is *Solanum phureja*. This species had been reported to present quantitative resistance to the pathogen. Some previous research by several authors have identified Quantitative Trait Loci (QTLs) associated for resistance to the disease in *S. phureja*. The identification of QTLs associated to the desired trait may be use as a tool to speed up the breeding process. In Chapter 6, an attempt to map resistance to late blight was made using a segregating population of a *Solanum phureja* cross from the Ecuadorian Potato Collection. DArT markers were utilized for genotyping. No QTLs were identified, probably due to lack of a sufficient contrasting resistance level in the studied offspring plants. Further studies will be necessary to confirm this.

The late blight susceptibility and yield of fifteen potato varieties was evaluated in two locations in Ecuador, in Chimborazo province in Chapter 7. There were significant differences observed for environments, genotypes and the interaction between these two sites. For one of this sites, Tunshi, there was no correlation among yield and late blight assessments and AUDPC. Meanwhile, in Quimiag, the opposite situation was observed. Carolina and 99_66_6, were the best performing clones with regard to late blight resistance. Carolina, INIAP-Estela and INIAP-Natividad had the best yields in both places. The variability observed shows the difficulties for breeding potatoes in Ecuador. Nevertheless, the varieties that performed good in both places are valuable for breeding and should be used as parental clones in the country.

Finally, in Chapter 8, the main findings are summarized and discussed for its use in future work with late blight in the country. It is discussed why despite the breeding efforts performed in the country, there is still low adoption of the improved late blight resistance varieties and why a susceptible one persist. Also discussed is the value of potato landraces as a source of late blight resistance for breeding purposes. The role of the variability of the clonal pathogen population is discussed. The monitoring of the main multilocus genotypes and screening the germplasm against them must be routine in the country. Introduction of new and effective late blight resistance genes is a need in order to obtain better varieties for this trait. Finally, the alternatives for improving the breeding process for late blight resistance are expressed in regards to the present legal frame in Ecuador which despite the limitations still requires change for improvement.

Resumen

La papa es uno de los más importantes cultivos del Ecuador. Este es cultivado por pequeños agricultores principalmente. El tizón tardío es la principal enfermedad que afecta al cultivo en el país, la cual reduce rendimientos. Así como en los inicios hasta la actualidad, la investigación y mejoramiento para resistencia a tizon tardío continúa siendo el objetivo principal en el mejoramiento del cultivo de la papa.

En el Capítulo 2, la historia del mejoramiento del cultivo de la papa en el país es revisada, así como los principales logros obtenidos en los últimos 60 años. A pesar del progreso realizado a través de estos años, resistencia durable a tizon tadio aun no ha sido desarrollada. Además, se discute los posibles motivos para la pobre adopción de variedades de papa mejoradas para resistencia al tizón tardío. Las preferencias de los agricultores, así como la de los comercializadores y consumidores jugarían un rol en la adopción de las variedades. Existe además la necesidad de un sistema formal de producción de semillas de papa, así como de incentivos para motivar la adopción de nuevas variedades.

La diversidad genética y patogénica de las poblaciones de *Phytophthora infestans* asociadas a papas nativas en tres provincias (Carchi, Chimborazo y Loja) de Ecuador fue analizada, en el capítulo 3. A pesar del hecho de que todos los aislamientos correspondieron al tipo de apareamiento A1, por lo que no habría recombinación sexual, la población estudiada fue compleja y virulenta para 4 hasta 11 R-genes. De los 66 aislamientos estudiados, 39 razas y 31 genotipos multilocus fueron identificadas. Todos los aislamientos pertenecieron al linaje clonal EC-1, el cual predomina en Ecuador desde los noventas. Los análisis realizados utilizando un set de 12 marcadores SSR abren la posibilidad de monitorear los genotipos predominantes en la población del patógeno. Los resultados sugieren altas tasas de mutacion y poca o ninguna selección para genotipos específicos.

En el Capítulo 4, un grupo seleccionado de papas nativas fue evaluado por su potencial como fuentes de resistencia al tizón tardío. Dos ensayos a campo fueron conducidos en San Pedro de Huaca, provincia del Carchi. Adicionalmente, una prueba de agresividad fue llevada a cabo en laboratorio con tres aislamientos de *Phytophthora infestans*, los cuales fueron inoculados en folíolos desprendidos de un grupo de cinco papas nativas y dos variedades comerciales. En los ensayos a campo, las variedades nativas Santa Rosa Amarilla, Uva, Coneja Blanca y Botella fueron parcialmente tolerantes al tizón tardío y se agruparon junto con las variedades mejoradas INIAP Estela, Fripapa y Natividad. En la prueba de agresividad, se observó que el ranking de los genotipos variaba dependiendo del aislamiento utilizado. La resistencia detectada parece ser de nivel similar al observado en las variedades mejoradas liberadas en el país. Las pruebas utilizando folíolos desprendidos pueden dar indicios sobre la reacción de los genotipos, pero los ensayos a campo son necesarios para confirmar el carácter. Para futuros trabajos en mejoramiento, las accesiones resistentes o tolerantes observadas pueden ser utilizadas en combinación con otros genotipos con resistencia cuantitativa y/o portadores de genes mayores de resistencia para mejorar variedades con resistencia cuantitativa ya existentes.

Un experimento a campo en Capítulo 5, fue llevado a cabo con la finalidad de evaluar la resistencia o susceptibilidad de 31 papas nativas ecuatorianas pertenecientes a nueva colección de germoplasma obtenida en Carchi, Chimborazo y Loja, las cuales eran genéticamente diferentes. Las papas nativas estudiadas en este trabajo tuvieron diferentes

respuestas frente al tizon tardío en campo. Pocas de estas papas nativas mostraron alto nivel de resistencia en campo similar al de la variedad INIAP-Fripapa. Para fines de mejoramiento, nosotros podemos explorar la colección de papas nativas en busca de resistencia al tizón tardío, pero pocas accesiones con resistencia en campo serían de esperarse. La introducción de nuevas fuentes de resistencia que puedan ser cruzadas con germoplasma local puede ser una alternativa. Adicionalmente, en una encuesta realizada entre 145 productores de papa en estas tres provincias, estos identificaron al tizón tardío como la principal enfermedad afectada sus cultivos.

El proceso de mejoramiento genético para la obtención e nuevas variedades de papa toma muchos años. Las papas nativas están bajo estudio como una posible Fuente de Resistencia al tizón tardío. Una de las especies presentes en el país es *Solanum phureja*. Esta especie ha sido reportada como portadora de resistencia cuantitativa al patógeno. Investigaciones realizadas previamente por otros investigadores han identificado la ocurrencia de QTLs asociados a resistencia a la enfermedad en *S. phureja*. La identificación de QTLs asociados a este carácter podría ser una herramienta para acelerar el proceso de mejoramiento. En el Capítulo 6, un tentativa de mapear la resistencia al tizon tardío fue llevada a cabo utilizando un población segregante de *Solanum phureja* pertenecientes a la Colección Ecuatoriana de Papa (CEP). Marcadores DarT fueron utilizados para el genotipado. No fueron identificados QTLs, probablemente debido a la falta de un contraste suficiente en el nivel de resistencia en las plantas de la progenie estudiada. Más estudios serán necesarios para confirmar esto.

La susceptibilidad al tizón tardío y rendimiento de quince variedades de papa fue evaluada en dos localidades en la provincia del Chimborazo, en el Capítulo 7. Diferencias significativas para ambientes, genotipos y la interacción entre ambos fueron observadas. En una de las localidades, Tunshi, no se observó correlación entre rendimiento, mediciones de severidad de tizón tardío y Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE). En tanto que, en Quimiag, la situación opuesta fue observada. Carolina y 99_66_6, tuvieron la mejor performance en cuanto a resistencia al tizón tardío. Carolina, INIAP-Estela e INIAP-Natividad presentaron los mejores rendimientos en ambos sitios. La variabilidad observada pone en evidencia las dificultades que existen en el mejoramiento de papa en Ecuador. Sin embargo, las variedades que tuvieron buen comportamiento en ambas localidades tendrían valor para mejoramiento genético y deberían utilizarse como líneas parentales en el país.

Finalmente, en el Capítulo 8, los principales hallazgos son resumidos y discutidos para su uso en el futuro trabajo con el tizón tardío en el país. Se discute por qué a pesar de los esfuerzos realizados en mejoramiento genético en papa en el país, aún hay baja adopción de variedades mejoradas con resistencia al tizón tardío y por qué una variedad susceptible persiste. Además es discutido el valor de las papas nativas como fuente de resistencia al tizón tardío para fines de mejoramiento. El rol de la variabilidad de la población clonal del patógeno es discutido. El monitoreo de los principales genotipos multilocus y la evaluación del germoplasma contra ellos debería ser una rutina en el país. La introducción de nuevos y efectivos genes de resistencia contra el tizón tardío es una necesidad con la finalidad de obtener variedades mejoradas por ese carácter. Por último, alternativas para acelerar el proceso de mejoramiento por resistencia al tizón tardío son presentadas teniendo en cuenta el marco legal vigente en Ecuador, el cual a pesar de las limitaciones permite posibilidades de perfeccionamiento.